

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Výskyt a vývoj hlístic rodu *Strongyloides* u nutrie říční
(*Myocastor coypus*)**

Diplomová práce

Bc. Pavla Mixánová

Management zdraví a welfare zvířat

prof. Ing. Iva Langrová, CSc.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Výskyt a vývoj hlístic rodu *Strongyloides* u nutrie říční (*Myocastor coypus*)" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 19.4. 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Ivě Langrová, CSc. za odborné vedení diplomové práce, ochotu, trpělivost, cenné rady, skvělou spolupráci a že tu pro mě po celou dobu byla. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Tomášovi Husákovi za veškerou pomoc při získání nutrií určených k výzkumu. Poděkování patří i těm, kteří mi ochotně nabídli pomocnou ruku při mém výzkumu. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat mým spolužačkám, a především mé rodině, která mě po celou dobu studia podporovala.

Výskyt a vývoj hlístic rodu *Strongyloides* u nutrie říční (*Myocastor coypus*)

Souhrn

První část diplomové práce byla věnována literární rešerši, která čtenáře seznamuje s nutrií říční (*Myocastor coypus*) a její anatomií trávicího traktu. Dále jsou uvedeny základy parazitismu a základní údaje o kmeni Nematoda. V této části je představený rod parazitických hlístic *Strongyloides spp.* a jsou zde popisovány jednotlivé druhy: *S. myopotami*, *S. stercoralis*, *S. venezuelensis* společně s *S. ratti*, *S. westeri*, *S. papillosus* a *S. ransomi*. Další kapitoly literární rešerše se zabývají Strongyloidózou a její diagnostikou, léčbou a prevencí. Poslední kapitola je věnována molekulární analýze používané při identifikaci parazitických hlístic.

Z vajíček se líhnou L1, které se následně svlékají nejdříve do L2 a poté L3 rhabditoidní nebo iL3 filariformní. U třetí generace se může již pozorovat rozdíl mezi parazitickými neboli filariformními jedinci a neparazitickými neboli rhabditoidními jedinci. Rhabditoidní larvy třetí generace projdou svlekem do čtvrté generace a dospívají do volně žijících samic a samců. Filariformní larvy třetí generace si najdou svého hostitele, do kterého pronikají penetrací kůže nebo ústní sliznicí. V těle hostitele dospívají do dospělých samic rozmnožujících se partenogenezí. Tyto samice parazitují v tenkém střevě, kde kladou identická vajíčka, která se dostávají do vnějšího prostředí spolu s faeces a dále se vyvíjejí.

Druhá část diplomové práce byla věnována výzkumu, jehož cílem bylo identifikovat a popsat jednotlivá stádia exogenního vývoje u hlístice *Strongyloides myopotami*. K tomu bylo využito prostředí laboratoře ČZU. Pro získávání vajíček hlístic *S. myopotami* byly dovezeny samice *Myocastor coypus* z české farmy. Z infikovaných faeces se pomocí koprologického vyšetření a Baermanovy metody získávala a izolovala vajíčka a larvy (L1, L2, L3 a iL3). Dále byly získány dospělé parazitické samice, které byly izolovány z trávicích traktů divokých nutrií z okolí Benešova. Jednotlivé části trávicího traktu byly podélně rozříznuty a proplachovány přes síto. Vzniklý obsah byl prohledáván pod mikroskopem. Nalezené samice byly popsány a poslány na genetiku pro identifikaci druhu, která potvrdila, že se jednalo o samice druhu *S. myopotami*. Pro vyhodnocení dat byla použita popisná statistika v programu STATISTICA.

Výsledky této práce uvádí morfologii vajíček, jednotlivých stádií larev a dospělých parazitických samic. Výzkum se zaměřil i na vývoj samotných vajíček. Tím vznikl nejzajímavější výsledek této studie. Doba, za jakou se z vajíček vylíhly L1, byla průměrně 4 hodiny a 59 minut.

Závěrem práce byla odpověď na stanovené hypotézy a lze uvést, že *S. myopotami* patří mezi časté hlístice nacházející se u nutrií chovaných v zajetí i u nutrií z volné přírody. Vajíčka těchto parazitů se líhnou maximálně do 8 hodin. Zároveň rhabditoidní L3 se velikostně odlišují od filariformních iL3.

Klíčová slova: *Myocastor coypus*, *Strongyloides*, parazité, nematoda

Occurrence and development of nematodes of the genus *Strongyloides* in *Myocastor coypus*

Summary

The first part of the thesis was devoted to literature research, which introduces the reader to the nutria (*Myocastor coypus*) and its anatomy of the digestive tract. The basics of parasitism and basic data on the Nematoda tribe are also presented. In this section, the genus of parasitic nematodes *Strongyloides* spp. is presented, and the individual species are described here: *S. myopotami*, *S. stercoralis*, *S. venezuelensis* together with *S. ratti*, *S. westeri*, *S. papillosus* and *S. ransomi*. Other chapters of the literature review deal with Strongyloidosis and its diagnosis, treatment and prevention. The last chapter is devoted to molecular analysis used in the identification of parasitic nematodes.

The eggs hatch into L1, which subsequently molt first into L2 and then L3 rhabditoid or iL3 filariform. In the third generation, a difference can already be observed between the parasitic or filariform individuals and the non-parasitic or rhabditoid individuals. Third-generation rhabditoid larvae moult into the fourth generation and mature into free-living females and males. Filariform larvae of the third generation find their host, which they enter by penetrating the skin or oral mucosa. In the body of the host, they mature into adult females reproducing by parthenogenesis. These females parasitize in the small intestine, where they lay identical eggs, which enter the external environment together with faeces and continue to develop.

The second part of the thesis was devoted to research, the aim of which was to identify and describe the individual stages of exogenous development in the nematode *Strongyloides myopotami*. For this, the environment of the CZU laboratory was used. Female *Myocastor coypus* were imported from a Czech farm to obtain *S. myopotami* nematode eggs. Eggs and larvae (L1, L2, L3 and iL3) were obtained and isolated from infected faeces using coprological examination and Baerman's method. Furthermore, adult parasitic females were obtained, which were isolated from the digestive tracts of wild nutria from the vicinity of Benešov. Individual parts of the digestive tract were cut longitudinally and rinsed through a sieve. The resulting content was examined under a microscope. The females found were described and sent to genetics for species identification, which confirmed that they were *S. myopotami* females. Descriptive statistics in the STATISTICA program were used to evaluate the data.

The results of this work present the morphology of eggs, individual larval stages and adult parasitic females. The research also focused on the development of the eggs themselves. This produced the most interesting result of this study. The time it took for L1s to hatch from the eggs was 4 hours and 59 minutes on average.

The conclusion of the work was the answer to the established hypotheses and it can be stated that *S. myopotami* is among the frequent nematodes found in nutria kept in captivity and in nutria from the wild. The eggs of these parasites hatch within a maximum of 8 hours. At the same time, rhabditoid L3 differ in size from filariform iL3.

Keywords: *Myocastor coypus*, *Strongyloides*, parasites, nematodes

Obsah

1	ÚVOD	8
2	CÍL PRÁCE	9
2.1	Vědecké hypotézy	9
3	LITERÁRNÍ REŠERŠE	10
3.1	Nutrie říční (<i>Myocastor coypus</i>).....	10
3.1.1	Anatomie trávicího traktu	11
3.2	Parazitismus.....	12
3.3	Nematoda	13
3.4	<i>Strongyloides spp.</i>	13
3.4.1	Životní cyklus.....	15
3.5	<i>Strongyloides myopotami</i> (Artigas & Pacheco, 1933).....	16
3.5.1	Morfologie	17
3.6	<i>Strongyloides stercoralis</i> (Bavay, 1876).....	18
3.7	<i>Strongyloides venezuelensis</i> a <i>S. ratti</i> (Sandground, 1925)	19
3.8	<i>Strongyloides westeri</i> (Ihle, 1917).....	22
3.9	Ostatní druhy <i>Strongyloides</i>	23
3.10	Strongyloidóza.....	24
3.11	Diagnostika, léčba a prevence	25
3.12	Molekulární analýza.....	26
4	MATERÁL A METODIKA	28
4.1	Materiál	28
4.2	Studijní pozadí.....	28
4.3	Metodika	28
4.3.1	Získání infekčních nutrií	28
4.3.2	Získání infekčních výkalů.....	29
4.3.3	Vývoj vajíček	29
4.3.4	Získání larválních stádií.....	30
4.3.5	Získání dospělých samic	30
4.3.6	Měření vajíček, larev a dospělých samic	30
4.3.7	Statistická analýza	31
4.3.8	Etické úvahy	31
5	VÝSLEDKY	32
5.1	Vývoj vajíček.....	32
5.2	Morfologie vajíček, larev a dospělých samic.....	33
5.2.1	Vajíčka	33
5.2.2	Larvy 1. generace (L1).....	33

5.2.3	Larvy 2. generace (L2)	34
	Larvy 3. stádia rhabditoidního typu (L3)	35
5.2.4	Larvy 3. stádia filariformního typu (iL3)	36
5.2.5	Dospělé parazitické samice	37
5.2.6	Změny na sliznicích trávicího traktu	38
5.2.6.1	Změny na sliznici po infekci <i>Strongyloides myopotami</i>	39
5.2.6.2	Změny na sliznici bez přítomnosti hlístic	42
5.2.6.3	Výskyt ostatních parazitů	43
5.2.7	Poměr iL3 a L3 z vajíček ze stejného vzorku faeces	43
5.2.8	Zdravotní stav chovaných nutrií	44
6	DISKUZE	45
7	ZÁVĚR	48
8	LITERATURA	49
9	SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY	I

1 ÚVOD

Původním domovem divokých nutrií byly rozsáhlé oblasti Jižní Ameriky. Nyní se nacházejí na všech kontinentech kromě Austrálie a Antarktidy. V mnoha zemích se nutrie staly invazivním druhem, kde začaly ničit břehy řek (Skřivan et al. 1976). V České republice se v roce 2011 nutrie vyskytovaly na 16,2 % území. Kolonie nutrií se ovšem stále rozšiřují, čemuž napomáhá globální oteplování a přikrmování volně žijících zvířat (Klimešová 2023). Výskyt volně žijících nutrií se zvyšuje především ve městech kolem řek, kde přicházejí do pravidelného kontaktu s lidmi. Bývají rezervoárem a přenašeči několika druhů bakterií a parazitů se zoonotickým nebo epizootickým potenciálem, čímž je způsoben nárůst a šíření rizika infekce. Riziko infekce nehrozí pouze u lidí, ale i u domácích mazlíčků či hospodářských zvířat. I zdánlivě zdravá zvířata mohou být infekční, jelikož onemocnění může probíhat zcela bez klinických příznaků.

Většina parazitů má však malý význam, klinické onemocnění mohou způsobovat především u mladých jedinců a u jedinců s oslabenou imunitou (Martino et al. 2012).

Strongyloides spp, se vyskytuje u mnoha druhů živočichů a je popsáno přibližně 50 druhů těchto hlístic. Mohou se nacházet jak v půdě, tak ve vodě, ovoci i zelenině (White et al. 2019). Problémem je objevující se rezistence na používané léky a dosud neexistující vakcína proti parazitárním onemocněním. Strongyloidóza se může stát velmi nebezpečnou, protože parazitující hlístice mohou migrovat celým tělem a způsobovat léze ve tkáních různých orgánů, což může být život ohrožující (Pienaar et al. 1999). Otázkou zůstává, i do jaké míry je specifická *Strongyloides* spp. 100%. Podle Thamsborg et al. (2017) je zoonotickým druhem pouze *S. stercoralis*, avšak Little (1965) uvádí, že *S. myopotami* má zoonotický potenciál a může infikovat i člověka, kterému při percutánní infekci způsobuje dermatitidu.

Strongyloides myopotami je druh drobné hlístice nacházející se u nutrií. Tento parazit má velmi složitý vývojový cyklus a obsahuje parazitickou i volně žijící generaci. Jejich morfologie se druh od druhu odlišuje.

2 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo identifikovat a popsat parazity rodu *Strongyloides* vyskytující se u nutrií chovaných v zajetí. Hlístice rodu *Strongyloides* patří mezi rozšířené parazity řady savců včetně člověka, mohou být zoonotické a mají komplikovaný vývojový cyklus. V práci byla popsána jednotlivá stádia exogenního vývoje, larvy i dospělé hlístice, dále parazitické partenogenetické samice. Hlístice byla dále identifikována pomocí molekulárních metod.

2.1 Vědecké hypotézy

H1: *Strongyloides myopotami* patří mezi časté hlístice nutrií chovaných v zajetí i nutrií z volné přírody.

H2: Larvy 1. stádia *Strongyloides myopotami* se líhnou z vajíček v rozmezí 6-10 hodin po opuštění těla hostitele a dostání se do vnějšího prostředí.

H3: Larvy 3. stádia rhabditoidního typu se velikostně odlišují od larev 3. stádia filariformního typu.

3 LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1 Nutrie říční (*Myocastor coypus*)

Nutrie říční, latinsky *Myocastor coypus* (Molina, 1782) spadá do třídy Mammalia (savců), řádu Rodentia (hlodavců) a řadí se do čeledi Myocastoridae (Nutriovití). Jedná se o druh se semiakvatickým (polovodním) životním stylem, nachází se kolem břehů řek, bažin, ale i jezer (Mihaylov et al. 2017). Jižní Amerika je původní domovinou tohoto savce, avšak její výskyt je celosvětový, krom Austrálie a Antarktidy. V našich zeměpisných šířkách je nutrie správné zoologické pojmenování pro většího hlodavce, připomínající a často zaměňující se za bobra či ondatru. Složenina řeckých *myos* (krysa) a *castor* (bobr) dala vzniku rodového jména pro tohoto savce (Mixánová 2022). Český název „nutrie“ je španělského původu, může být označen za nesprávný, jelikož „nutria“ znamená španělsky vydra (Skřivan et al. 1976). Označení druhového názvu *coypus* pochází z původní domoviny nutrií z Chile (Točka 1983).

Kvůli jejímu rozsáhlému výskytu a negativnímu dopadu na ekosystémy, zavlažovací systémy a obilniny, je nutrie považována v mnoha zemích za invazivního škůdce. Díky tomuto se jedná o druh, který je zařazen mezi 100 nejškodlivějších invazivních druhů na celém světě. Do Evropy se nutrie dostala poprvé v roce 1948, díky produkci kožešiny a masa (Mihaylov et al. 2017).

Na přelomu 18. a 19. století vrcholil zájem o nutrií kožešiny. Koncem 19. století začaly ve Francii vznikat nutrií farmy, které se nadále rozšiřovaly. Invazivním druhem se staly díky jejich reprodukčním schopnostem (Choe et al. 2014). Nutrie má polyestrický cyklus, takže rozmnožovat se může během celého roku (Točka 1983). Do volné přírody je vypustili samotní farmáři v období 2. světové války nebo zvířata sama utekla. U nutrií se objevuje značná řada parazitů, kteří mohou být zoonotičtí a tím představují riziko nejen pro člověka. Jejich kolonie bývají rozšířeny u řek protékajících městy (Mixánová 2022). Nutrie bývají hostiteli několika druhů endoparazitů, ektoparazitů, bakterií a virů, které se mohou přenášet na ostatní zvířata, včetně člověka (De Michelis et al. 2023).

Ve volné přírodě žijí nutrie v koloniích (Skřivan et al. 1976). Kolonie je tvořena menší skupinou, rodinou či páry. Ve skupině a v rodině je vždy jeden samec a několik samic. Své hnízdo a potravní území si pečlivě brání před ostatními jedinci. Toto chování se nevytratilo ani po dobu domestikace (Točka 1983). Jejich potrava se skládá z vodních rostlin, škeblí, vajec a některých ryb (Skřivan et al. 1976). Podle Mihaylov et al. (2017) však ryby do jejich potravního repertoáru nespádají, a proto jsou vhodné pro chov na rybích farmách. Další složkou potravy, kterou přijímají, představují semena, ovoce a zelené rostliny, které obsahují více vody. Živočišnou složku zastupují škeble a malí měkkýši. Denně mohou sežrat až 25 % své tělesné hmotnosti (Choe et al. 2014). Potravní aktivitu mají především ve večerních hodinách, v noci a v brzkých ranních hodinách. Přes den spíše odpočívají ve svých hnízdech (Točka 1983).

V Jižní Americe byly nutrie vyšetřovány na endoparazity. Našlo se celkem 19 druhů, tvořily je Nematoda, Cestoda, Trematoda i Protozoa. Mezi nejběžnější nalezené parazity patřily právě *Strongyloides myopotami*. Infikovaní jedinci však nevykazovali žádné známky onemocnění, jelikož zátěž parazity byla nízká (Martino et al. 2012).

3.1.1 Anatomie trávicího traktu

Anatomie a fyziologie trávení u nutrií je podobná jako u králíků (Pérez et al. 2008). Průměrná hmotnost nutrií se pohybuje okolo 4 až 8 kilogramů. Dospělí samci mohou vážit až 10 kilogramů. Samice bývají lehčí. Tělo dosahuje délky 0,45-0,60 metrů (Točka 1983). Délka trávicího traktu je 12 x delší než samotné tělo nutrie. Tenké střevo je dlouhé 5 metrů, zatímco tlusté střevo má délku přibližně 1,5 metru. Dobře vyvinuté je slepé střevo, které měří 0,5 metru a vyplňuje pravou část dutiny břišní, kde dochází k rozštěpení vlákniny, pomocí anaerobních bakterií. V levé polovině břišní dutiny je uložený jednokomorový žláznatý žaludek s malým objemem (Mertin et al. 2005).

Ústní dutina je vybavena masitými chlopněmi, které ji dělí na vnitřní a vnější část. Tyto chlopně zabraňují proniknutí vody a chrání nutrie při potápění. Vyskytují se i v nose a na zvukovodech. Pod vodou vydrží až po dobu 5 minut (Mertin et al. 2005). Když jsou rty zataženy, sahají kaudálně k zadnímu okraji dolních a horních řezáků. Boční plochy rtů se nacházejí okolo řezáků a spojují se vzadu v tenké rýze, která částečně odděluje ventrální část jazyka. Na obou stranách dolních řezáků a na bukalní ploše rtů jsou dva vyvýšené záhyby, které při uzavření úst oddělují vestibulární aparát od ústní dutiny. Okraje horních rtů přiléhají k dásním a řezákům (Wagner 1963). Rty jsou pokryté hmatovými chlupy a srstí. Dospělí jedinci jsou vybaveni 20 zuby z toho jsou dva páry silných hlodáků, mláďata mají zubů pouze 12 (Skřivan et al. 1976). Neustále dorůstající hlodáky mají hnědočervenou až mahagonovou barvu. (Točka 1983). Ve slinách se nachází enzym štěpící cukr neboli amyláza, která ho rozštěpí na maltózu (Mertin et al. 2005).

Objem žaludku tvoří 400-500 centimetrů čtverečních (Točka 1983). Zastupuje chemické trávení pomocí žaludečních kyselých šťáv s pH 1,7 – 4,5 a mechanické zpracování. Žaludek a střevo obsahují až 95 % vody (Mertin et al. 2005).

Tenké střevo se skládá z duodena (dvanáctníku), jejuna (lačníku) a ilea (kyčelníku). Je dlouhé přibližně 5 metrů a z celkového objemu trávicího traktu tvoří 42 %. Duodenum je uloženo v pravém podžebří. Začíná v pyloru, kde je mezi žaludkem a střevem dobře vyvinutý svěrač (Mertin et al. 2005). Rozšiřuje se, pokračuje pravým směrem a utváří duodenální ampulku. Další částí duodena tvoří kraniální a sestupné zakřivení, které končí v kaudální části. Jejunum vedle až k ileocaecálnímu záhybu. Ileum je na konci připojené ke stočenému caecu pomocí ileocaecálního záhybu (Pérez et al. 2008).

Tlusté střevo zaujímá 13 % z trávicího traktu. Části tlustého střeva jsou caecum (slepé střevo), colon (tračník) a rectum (konečník). K caecum je připojena proximální část *colon ascendens* (vzestupného tračníku) caecocolickým záhybem. Distální část vzestupného tračníku má hladkou a vakovitou část. Hladká část distální části vzestupného tračníku je připojena k sestupnému tračníku peritoneálním záhybem. Příčný tračník je napojený přímo na mesoduodenum a stáčí se doleva kolem kraniálního mezenteria. (Pérez et al. 2008). Krátký a rovný úsek sestupného tračníku ukončuje kaudální část tlustého střeva, kde se nachází silný a široký svěrač rectum (Mertin et al. 2005). Největší objem má caecum, tvoří 45 % z trávicího traktu. Podle objemu trávicího traktu, se potvrzuje schopnost dobrého trávení a využívání objemných krmiv. Konzistence faeces je pevná a má protáhlý tvar (Točka 1983).

3.2 Parazitismus

Parazitismus neboli cizopasnictví je typ mezidruhového antagonistického vztahu u organismů a hraje velmi důležitou roli v životní strategii organismů, která je v evoluci nejvíce rozšířena. Je to dynamický proces morfologické i funkční adaptace. Vyskytuje se jak u jednobuněčných jako jsou Protozoa, tak u mnohobuněčných, kam řadíme Trematoda, Cestoda, Nematoda, Insecta, Arachnida a mnoho dalších (Jurášek & Dubinský 1993).

Široká škála vztahů s různými druhy představuje značný problém ve veterinární i humánní medicíně. Světová zdravotnická organizace, jenž sleduje infekční onemocnění, zařazuje parazity jako původce sedmi z deseti nejzávažnějších infekčních onemocnění. U mnoha dalších chorob vyvolaných parazity vzrůstá nemocnost a hrozí vznik pandemie. Paraziti onemocnění sami vyvolávají nebo slouží jako vektor a onemocnění přenášejí. Tyto nemoci ohrožují především tropy a subtropy. Globální změny a lidská činnost napomáhá rozšíření parazitů na zcela nová území. Česká republika je silným a světově uznávaným partnerem pro výzkum parazitů. Českým zakladatelem parazitologie se stal prof. Otto Jírovec (1907-1972). Parazitický organismus získává živiny z jednoho nebo z více hostitelů. Značně jim škodí, ale nemusí to vždy vést k vysoké mortalitě. Jde vždy o zisk parazita a strádání hostitele, kterému jsou způsobeny škody. Parazitům by měl tento životní styl zvyšovat fitness, musí však být tomuto stylu přizpůsobení. Rozdělují se do skupin: podle vztahu rozmnožování s nutností hostitele na fakultativní a obligátní parazity; podle ekologie na mikroparazity a makroparazity; z hlediska životních cyklů (hostitelské specifity) na jednohostitelský a vícehostitelský. Fakultativní paraziti obvykle nutně nepotřebují ke svému rozmnožovacímu cyklu hostitele, zatímco obligátní paraziti mají svůj vývojový cyklus vázaný na hostitele a bez něj se rozmnožit nedokáží. Mikroparaziti většinou nemají infekční stádia a množí se v těle hostitele, pro kterého může vyvolané onemocnění být fatální. Patří mezi ně bakterie, viry, prvoci a houby. Makroparaziti nenavysňují v hostiteli svůj počet, ale produkují infekční stádia, která poté infikují dalšího hostitele. Řadí se k nim červi a členovci. Rozdělení parazitických organismů, podle místa působení, je na endoparazity, kteří se nacházejí uvnitř těla hostitele a ektoparaziti, kteří žijí na povrchu těla hostitele. Existuje tzv. „hostitelská specifita“, kdy parazit napadá konkrétní druhy zvířat. Tuto specifitu může mít hodně úzkou nebo naopak širokou. Vše je ovlivněno etologií a ekologií hostitele, kterého dělíme podle místa sexuální fáze na mezihostitele, u něhož nedochází k množení a definitivního hostitele, který slouží k dokončení vývojového cyklu parazita. Ke zjištění původu parazitického způsobu života může být potvrzení molekulárního fylogenetického umístění parazitických taxonů a jejich volně žijících příbuzných (Volf, Horák et al. 2007, Blaxter & Koutsovoulos 2015).

Další formou parazitismu může být tzv. hyperparazitismus, u této formy se nachází parazit parazitující v těle jiného parazita. Náhodný parazitismus se může objevovat u volně žijících organismů, které náhodou vstoupí do těla hostitele a zapříčinit vyvolání onemocnění. Jedná se o období fakultativního parazitizmu. Parazit může v těle hostitele parazitovat dočasně, stále, periodicky. Klíčovým bývají generace, ty mohou mít parazitické jen stádium larvy nebo všechny generace. Neobvyklým není ani střídání parazitizmu a volně žijící formy ob generaci. Označením „pseudoparazit“ bývá vysvětlení záměny parazita například za zrna pylu (Jurášek & Dubinský 1993).

3.3 Nematoda

Nematoda, českým názvem hlístice, patří do nejpočetnější skupiny živočichů. Jsou mořského původu. Tato skupina je velmi rozšířena. Bylo popsáno přibližně dvacet tisíc druhů, které spadají pod parazity obratlovců. Dalších pět tisíc parazitů není zatím popsáno. Většinou každý suchozemský druh zvířete či rostliny je spojen alespoň s jedním druhem parazitických hlístic. Celosvětově je infikována až jedna třetina lidí ročně. Evoluční původ mechanismů, díky kterým parazité infikují své hostitele a vyhýbají se jejich imunitě, je důležitý pro veterinární a lékařskou vědu. Mnoho dalších má volně žijící způsob života. Hlístice parazitují především v trávicím traktu, ale nacházejí se mohou i v dalších orgánech, jako je lymfatický a krevní oběh, dýchací soustava, nervová soustava, urogenitální trakt, kůže a tělní dutiny. Některé hlístice střídají volně žijící a parazitickou generaci. Pohlavní dimorfismus není výjimkou. Samice zpravidla dorůstají větších rozměrů. K usnadnění tranzitu z jednoho hostitele na druhého mohou využívat tzv. „vektorového hostitele“, kterým bývají především členovci. Délka těchto hlístic je různorodá, bývá už od několik set mikrometrů až po několik metrů. (Volf, Horák et al. 2007, Blaxter & Koutsovoulos 2015).

Jejich nesegmentované tělo má kulovitý průřez a protáhlý válcovitý tvar, který se na obou koncích zužuje (Taylor et al. 2015) Jsou chráněny několikavrstevnou kutikulou, podle které se může identifikovat konkrétní druh. Tato vrstva je bezbarvá a do jisté míry průhledná. Svalové buňky, ležící mezi tělní tekutinou s vysokým tlakem a podkožním vazivem, udržují tuhost a tvar těla. Lokomoce je možná díky svalové kontrakci na jedné straně a svalové relaxaci na straně druhé. Tato kontrakce a relaxace se střídá na ventrální a dorzální části těla. Většina orgánů má vláknitý tvar a jsou zavěšeny v tělní dutině. Trubicovitý trávicí systém začíná jednoduchým ústním otvorem, který vede přímo do jícnu. U samic se jícn napojuje na střevo, které končí řitním otvorem, zatímco u samců střevo ukončuje kloaka, která taktéž slouží jako řitní otvor, ale vedou do ní chámovody a jsou skrz ni vytlačovány kopulační spikuly. Parazitující nematoda se živí tělní a slizniční tekutinou, buněčnými zbytky nebo produkty vzniklé trávením. První a druhá generace se živí především bakteriemi (Urquhart et al. 1996).

3.4 *Strongyloides spp.*

Kmen: Nematoda

Řád: Rhabditida

Čeleď: Strongyloididae

Rod: *Strongyloides*

Carl Wendl přibližně před 150 lety popsal hlístici, která byla nalezena v tenkém střevě ovce. Pojmenoval ji *Trichosoma papillosum* (Rudolphi, 1819). Jednalo se o první popis háďátka, které se nyní řadí podle současné taxonomie do rodu *Strongyloides* (Grassi, 1879). Tento rod však vznikl až o 20 let poté, kdy byl poprvé popsán *Strongyloides stercoralis* (Bavay, 1876), který parazituje v tenkém střevě lidí. To byl počátek zkoumání tohoto rodu hlístic (Streit 2007). U lidí se nevyskytuje pouze *S. stercoralis*, ale i *S. fulleroni* (Viney & Lok 2015).

Celkově jsou to malé a tenké hlístice, které nepřesahují 1 centimetr délky (Urquhart et al. 1996). Mohou se nacházet u zvířat, půdě, vodě, ale i v zelenině a ovoci (White et al. 2019).

Tento druh parazita infikuje především mladé jedince malých i velkých domácích či hospodářských zvířata po celém světě. Každý druh však vykazuje hostitelskou specifitu, není to potvrzené až tak geneticky, spíše podle rozdílné morfologie. (Thamsborg et al. 2017). Ačkoliv se nejedná o parazita s výraznou patogenitou, může způsobovat za určitých podmínek těžkou enteritidu (zánět tenkého střeva) (Urquhart et al. 1996).

Je znám svým složitým vývojovým cyklem obsahuje přibližně 50 druhů a může se od ostatních odlišit podle 5 identifikačních znaků, tj. tvaru stomie (viz Obrázek 2), tvaru ocasu, typu vaječníku, počtem laloků na cirkumorální elevaci neboli ústech a v neposlední řadě podle tvaru a velikosti vajíček. Pro určení druhu mohou být však i další charakteristiky, které jsou klíčové pro daný druh (Choe et al. 2014). Dříve však rod *Strongyloides* byl rozdělen pouze do dvou skupin, které zahrnovaly *S. stercoralis* a *S. papillosus*. Později však byly nalezeny nesrovnalosti a zjistilo se, že rod *Strongyloides* obsahuje více druhů, než bylo uvedeno (Little 1966).

Životní historie těchto hlístic má několik zajímavých rysů. Tento rod se skládá z parazitických samic, které se nachází ve střevě hostitele a volně žijící generace, která se skládá ze samic a samců žijících v půdě. Specifita nebývá neobvyklou a vyskytuje se u většiny druhů (Bradbury et al. 2021). Díky velké četnosti druhů tohoto rodu, hlístice parazitují v gastrointestinálním traktu u plazů, obojživelníků, ptáků a savců. Po zkoumání je uvedeno, že většina parazitických druhů je schopna infikovat velmi málo nebo pouze jeden hostitelský druh (Viney & Lok 2015, Little 1966). Stále je mnoho otázek, například který mechanismus určuje nepřímý a přímý vývoj. (Bradbury et al. 2021).

U parazitických samic se druh určuje podle vaječnic, které vedou kolem střeva spirálovitě nebo rovně (Viney & Lok 2007). Děloha a střevo jsou navzájem propletené (Urquhart et al. 1996). Morfologické srovnání vzájemných struktur a velikosti, též napovídá, o který konkrétní druh se jedná. K parazitickému způsobu života se uchylují pouze samice. (viz Obrázek 1). Způsob dvoupohlavní volně žijící generace se mezi hlísticemi, která se rozmnožuje a vyvíjí mimo tělo hostitele, vyskytuje jen zřídka. Původně se díky těmto dvěma odlišným způsobům života, tyto generace považovaly za zcela odlišné druhy. Fylogenetická rekonstrukce hlístic rodu *Strongyloides* sp. je založena na rRNA SSU do kladu IV. Diagnostika tohoto parazita probíhá prostřednictvím čerstvých faeces, které jsou podrobeny koprologickému vyšetření. Pokud není možno faeces odebírat přímo z rekta, odebírá se přímo ze země. Dospělé samice se získávají přímo z trávicího traktu hostitele. Nachází se v horní polovině až třetině tenkého střeva, kde produkují vajíčka o velikosti 40 – 85 μm (Viney & Lok 2007, Viney & Lok 2015).

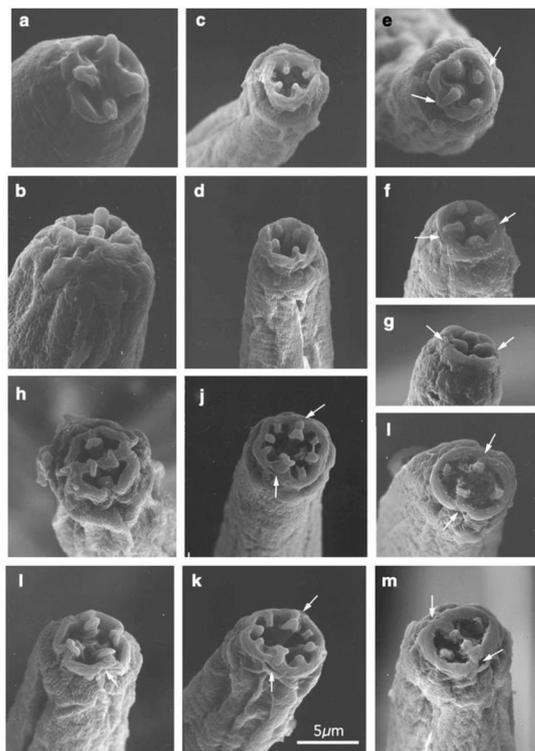


Obrázek 1: Volně žijící dospělci. Samice vlevo a samec vpravo. Měřítko 50 μm . (Viney et al. 2007)

Prohlášení, že parazitické samice se rozmnožují pomocí partenogeneze, je založeno na několika důkazech. Výjimkou jsou dvě zprávy z počátku 30. let 20. století, kdy tato fakta byla

odmítnuta. Jiní autoři se snažili najít sperma v reprodukčním orgánu samic, to se jim však nepodařilo. Závěrem bylo, že během ontogeneze u parazitické samice nedošlo k žádné meióze a k rozmnožování docházelo pomocí mitotické partenogeneze. Toto je jedno z nejrozšířenějších reprodukčních technik parazitických samic tohoto rodu hlístic. Sandground (1926) objevil struktury, o kterých si myslel, že se jedná o spermie v reprodukčním traktu. Nepodařilo se mu však najít žádné parazitické samce, proto dospěl k závěru, že se jedná o hermafroditismus. Tvrzení však bylo zpochybněno tvrzením autora Chitwood & Graham (1940) tento autor popsané spermie hodnotil jako somatické buňky. Výskyt dvoudomé generace poprvé popsal Kreis (1932) a později tento výskyt potvrdil Faust (1933) který infikoval 40 psů hlísticemi *Strongyloides sp.*, které byly izolovány z faeces šimpanzů (Streit 2007).

Jelikož se téměř všechny druhy *Strongyloides spp.* velmi podobají, nedají se zcela přesně morfologicky odlišit. Je nutné udělat analýzu sekvence DNA, pro přesnější určení. Pro tyto druhy byla stanoven gen 18S ribozomální RNA a mitochondriální DNA. Jelikož je sekvence 18S rDNA mezi druhy velmi konzervativní, není vhodná pro určování druhu. Ačkoliv malá část tvořící smyčku a krátký stoněk v DNA 18S je mezi druhy v nukleotidech velmi variabilní, mohla by proto sloužit jako druhový marker (Hasegawa et al. 2009).



Obrázek 2: Tvar stomie parazitických samic *Strongyloides spp.*; a,b) *S. robustus*; c,d) *S. callosciureus*; e,g) *S. papillosus*; j,k) *S. myopotami*; l,m) *S. ransomi*; všechny fotografie jsou ve stejném zvětšení (Sato et al. 2008)

3.4.1 Životní cyklus

Parazitující samice se rozmnožují pomocí partenogeneze, kdy nedochází k oplození a kladou ve střevě hostitele vajíčka, která se následně dostávají spolu s faeces do vnějšího prostředí, kde se dále vyvíjejí. Z vajíček se do několika hodin líhnou larvy první generace (L1)

(Viney & Lok 2007). Tyto larvy pak procházejí jedním ze dvou životních cyklů, ve kterých projdou čtyřmi larválními stádii. U prvního životního cyklu podstoupí dvě svlékání, nejdříve se z nich stanou larvy druhé generace (L2) a po dalším svleku infekční larvy třetí generace (iL3). Tyto larvy jsou však citlivé na klimatické podmínky. Vývoj podporuje teplo a vlhko, což odpovídá například klimatickým podmínkám v ustájení mláďat (Streit 2007, Thamsborg et al. 2017). U *S. papillosus* bylo potvrzeno, že teplota má vliv i na poměr volně žijících a parazitických samic, volně žijící samice převažují při inkubační teplotě 30 °C, zatímco infekční larvy při 20 °C (Nwaorgu 1983). Infekční larvy jsou buď pozřeny nebo do hostitele pronikají perkutánně. Migrují přes oběhový (žilní) a dýchací systém (průdušnice, plíce) do tenkého střeva, kde se usadí a stávají se z nich dospělé samice, které jsou připravené klást vajíčka. V plicích mohou způsobovat erytmatózní reakci, při níž vznikají drobné krváceniny téměř po celé sliznici. Ve střevech může docházet k poruše trávení a vstřebávání živin (Urquhart et al. 1996). V druhém odlišném cyklu se opět vylíhnou larvy první generace (L1). Přes larvy druhé generace (L2) se svlékají a vznikají z nich neinfekční larvy třetí generace (L3), ze kterých se po čtvrtém svleku stávají volně žijící samci a samice, kteří následně produkují infekční potomstvo. Generace, která žije ve volném prostředí, se vyskytuje jen zřídka (Streit 2007, Thamsborg et al. 2017). Podrobnější vývojový cyklus je popsán níže u *S. stercoralis*.

3.5 *Strongyloides myopotami* (Artigas & Pacheco, 1933)

Tento druh byl prvně nalezen při průzkumu parazitických hlístic v Argentině u podzemního hlodavce tuco-tuco z rodu *Ctenomys* (Rossin et al. 2009). Tento parazit podle Mertin et al. (2005) patří k nejběžnějším parazitům vyskytujících se u nutrií s čím souhlasí i Zanzani et al. (2016). Do Evropy byl zavlečen společně s nutriemi. Starší zvířata bývají hlavními přenašeči, protože infekce tímto parazitem u nich probíhá latentně. Infekční stádia larev pronikají do těla přes gastrointestinální trakt či přes kůži. Dostávají se do jater, srdce, a především do plic. Z plic jsou následně vykašlány, polknuty a poté se dostávají do střev, kde dospívají a dokončují svůj cyklus, který trvá zhruba 9-18 dní. Působí hluboké poškození sliznic a tkání, odebírají živiny a mohou vyvolat sekundární bakteriální infekce. Mláďata bývají nejvíce náchylnější a ve 40 % infekci podlehnou. Mezi obvyklé příznaky se zařazuje ztráta hmotnosti, špatná kvalita srsti, dušnost a průjemy i s příměsí krve. Podle Skřivan et al. (1976) paraziti způsobují zánětlivé změny na žaludeční a střevní sliznici. Dále může být způsobena dermatitida „svědění nutrie“. Lidé vystavení tomuto parazitovi vykazovali též známky dermatitidy. Mezi příznaky patří makulopapulární (skvrny a pupínky) a erytmatózní (začervenalá) vyrážka, která může přejít až v těžkou dermatitidu (Choe et al. 2014). Martino et al. (2012) podle své studie zdůrazňuje, že nebyly zjištěny žádné statistické rozdíly mezi napadením parazity, pohlavím a věkem.

Ve Střední Itálii v malém mokřadu Torre Flavia se prováděl výzkum na prevalenci hlístic. Prevalence dosahuje 71 %. Z 31 zkoumaných nutrií byly *Strongyloides* detekovány u 22 jedinců. Celosvětově je u nutrií hlášený nález 4 druhů hlístice rodu *Strongyloides*: *S. myopotami*, *S. chapini*, *S. papillosus* a *S. ratti*. Ačkoliv mají tyto hlístice zoonotický potenciál, pro člověka však ani jeden druh nepředstavuje vážné riziko, jelikož vyvolávají jen mírné kožní onemocnění (De Michelis et al. 2023). Se zoonotickým potenciálem

u *S. myopotami* souhlasí i Little (1965). Další zkoumanou oblastí byly mokřady v severní Itálii, kde vyšetřili 153 divokých nutrií. Prevalence *S. myopotami* byla 63,4 % (Zanzani et al. 2016). Podle Mori et al. (2024) k objasnění patogenity a rizika přenosu *S. myopotami* na člověka je potřeba dalších studií.

3.5.1 Morfologie

Vajíčka jsou elipsoidního tvaru a měří 51 - 66 (58±4,5) µm na délku a šířku 21-27 (24,19) µm (Choe et al. 2014). L1 až L2 dosahují délky od 150 do 390 µm s šířkou 14-20 µm. Tato dvě stádia mají rhabditoidní tvar jícnu, který je 50 až 130 µm dlouhý. Navazuje přímo na střevo, které vede středem těla a bývá dlouhé 46–180 µm. Konec střeva ukončuje rektum, které je od špičky ocasu vzdáleno 40-60 µm.

Volně žijící rhabditoidní L3 jsou dlouhé 516 (467-530) µm a široké 29 (27-30) µm. Jícen těchto larev dosahuje délky v rozmezí 100-152 µm, průměrně 134 µm. Střevo je rovné. Ocas má konický tvar a jeho průměrná délka je 88,8 µm v rozmezí 80-95 µm. Filariformní larvy dosahovali průměrně délky 729 (712-752) µm se šířkou pouze 15 µm. Jícen je dlouhý průměrně 305 µm v rozmezí 276-325 µm. Střevo je opět rovné. Konec těla je zakončený ocasem s vroubkovanou špičkou dlouhým 85 (80-90) µm (Rossin et al. 2009).

Filariformní iL3 se od volně žijících larev odlišují především délkou a tvarem jícnu, délkou těla a šířkou těla. iL3 dosahují průměrné délky 685 µm (645-800) µm a průměrné šířky 14 µm (13-15) µm. Jejich rovný dlouhý jícen, který může zasahovat až do poloviny těla, měří minimálně 293 µm maximálně však 360 µm, průměrná délka je 313 µm. Anus je od špičky ocasu vzdálen 75 – 90 µm, průměrně 83 µm (Little 1966)

Dospělé parazitické samice mají tenké a značně dlouhé tělo (viz Obrázek 4). Z většiny druhů *Strongyloides* patří k jedním z nejštíhlejších (Little 1966). Tělesné míry se mohou lišit, což může ovlivnit konkrétní hostitel. Porovnání tělesných mír s ostatními autory je na Obrázku 3. Hlava je špičatá a konec ocasu zakulacený. Délka těla se pohybuje od 3 700 do 4 700 µm (průměrně 4 000±360 µm), šířka 30-40 (33±3) µm. Nervový prstenec a osmilaločný komplex je od přední části ve vzdálenosti 122-165 (150±16) µm. Jícen je rozdělený na svalovou a žláznatou část, celková délka je 820 - 1 162 (1 024±117) µm. Děloha bývá krátká, vulva obsahuje viditelné rty a nachází se v přední polovině těla 976-1 053 (1 114±100) µm od konce těla. Anus je v zadní části 43-60 (53±5) µm od špičky kuželovitého ocasu. Různé části těla samice *S. myopotami* získané z divoké nutrie jsou vyobrazeny na Obrázku č. 4. Stomie neboli ústní otvor samice je zdobená, zahrnuje 2 boční, 2 široké a 2 nízké laloky (Choe et al. 2014).

	(Little 1966) <i>Myocastor coypus</i>	(Matsudate et al. 2003) <i>Myocastor coypus</i>	(Rossin et al. 2009) <i>Ctenomys talarum</i>	(Rossin et al. 2009) <i>Ctenomys pearsoni</i>
Délka těla	3 100-5 200 (4 120)	2 900-5 300 (4 000)	3 790-4 130 (3 960)	4 470-5 180 (4 740)
Šířka těla	30-40 (37)	40-60 (44)	40-52 (44)	37-48 (43)
Délka jícnu	800-1 300 (1 090)	-	1 100-1 280 (1 210)	800- 1 100 (980)

Obrázek 3: Porovnání velikosti těla parazitických samic u *S. myopotami* s údaji ostatních autorů; uvedeno v µm; převzato od (Rossin et al. 2009, Choe et al. 2014)



Obrázek 4: Vlevo parazitická samice *S. myopotami*; vpravo vyobrazené části p. samice C) Přední část těla samice; D) spojení jícnu a střeva; E) odvinuté střevo a vaječník; F) Výrazné pysky vulvy; G) zadní část těla. ME: svalový jícen; Ov: vaječník, Vo: otevíření vulvy, An: konečník (Choé et al. 214)

3.6 *Strongyloides stercoralis* (Bavay, 1876)

Strongyloidóza je zoonotické onemocnění, které způsobuje již zmíněné hádě *S. stercoralis*. Do lidského těla se dostává obvykle přes kůži, především přes chodidla. Jeho výskyt byl hlášen i u jiných živočišných druhů jako jsou psi a primáti. Člověk se může nakazit i kontaktem s infikovanými faeces. Onemocnění ve většině případech probíhá asymptomaticky nebo způsobuje kopřivku, pohybováním se larvy v kůži. Pokud se parazit dostane do jiných orgánů, objevují se příznaky podle místa napadení. Může být vyvolán kašel, sípání až chronická bronchitida po napadení plic. Pokud se parazit dostane do gastrointestinálního traktu způsobuje bolesti břicha, průjem až autoinfekci ve střevech nebo v perianální oblasti. Dospělé larvy, které pronikly sliznicí, rozptylují vajíčka pomocí lymfatického a oběhového systému po celém těle. Vylíhnutá vajíčka zapříčiní sepsi různých tkání. V případech imunodeficiency může onemocnění být až smrtelné. Diagnóza se provádí amplifikací genomu ve stolici, přímou mikroskopií nebo sérologickými testy. Léčebně se podává ivermektin, albendazol a thiabendazol (Tobar et al. 2021).

Jejich výskyt je kosmopolitní. U lidí může být infekce těžce odhalitelná, celosvětově je však infikováno 100-200 miliónu lidí (Viney & Lok 2007). Zhou et al. (2019) uvádí, že současný počet infikovaných lidí se pohybuje až okolo 370 milionů. Kvůli složité diagnóze mohou být počty infikovaných lidí mnohem vyšší. Rozšíření toho parazita u lidí je hlášeno především v tropických a subtropických oblastech. K jejich hojnému výskytu napomáhají přírodní podmínky, vysoká teplota a vlhkost. Jelikož v těchto oblastech je špatná zoohygiena a lidé často chodí naboso, je riziko přenosu vysoké, protože parazit proniká do hostitele penetrací kůží. Tato hlístice byla již hlášena i z Austrálie, Severní Ameriky a Evropy, kde je však úroveň zoohygieny vysoká.

Pokud se hlístice rozšíří do jiných orgánů mimo gastrointestinální trakt, může se onemocnění stát smrtelné. V Nové Guineji působí parazit problém hlavně u dětí, kdy způsobuje extrémní střevní infekci a při absenci terapie má fatální následky. U *S. stercoralis* se též může objevit tzv. autoinfekce, při které celý vývoj probíhá v těle hostitele. Vylíhnuté larvy z vajíček postupují zrychlený vývoj, a ještě ve střevech se z nich stávají iL3, které pak migrují do okolních tkání a orgánů, kde podstupují hypobiózu. To vede k prudké expanzi počtu parazitů

a bez léčby jsou zapříčiněny fatální následky. Jelikož ve výkalech nemusí být obsažena vajíčka, je toto onemocnění velmi těžce odhalitelné. iL3 mohou být přenášeny transmamární cestou, kde se při přenosu aktivují a pomocí laktace se dostanou do gastrointestinálního traktu novorozenců. Podobný způsob vývoje a přenosu se vyskytuje u škrkavek a měchovců (Viney & Lok 2007). *S. stercoralis* může parazitovat i u psů a primátů, a tím stávají potenciálními zoonotickými přenašeči zvíře-člověk. (Zhou et al. 2019).

Morfologie je podobná jako u ostatních druhů. Larvy první a druhé generace dosahují délky 180 μm až 540 μm . Tyto larvy se dají pozorovat po několika hodinách ve stolici. Po jednom až dvou dnech lze pozorovat infekční filariformní larvy třetí generace, které mají na délku přibližně 400-800 μm a šířka se pohybuje od 14 μm do 19 μm . Jejich ocas je trifurkovaný neboli rozdělený a tvoří tzv. vidlici. Největším rozdílem od rhabditoidních jedinců je jejich jícen, který vyplňuje skoro polovinu délky těla, jeho tvar je rovný bez záhybů. Rhabditoidní volně žijící samci a samice (viz Obrázek 5) měří zhruba 800 μm až 1 200 μm a široké bývají 40 až 70 μm . Samice od samců se může odlišit podle velikosti, protože bývají 1,1 až 1,3krát větší než samci. Vaječník samice je didelfický (párový) a u jeho střední části se nachází vulva. U samce je pouze jedno varle. Samcův ocas je ventrálně zakřivený (Zhou et al. 2019).

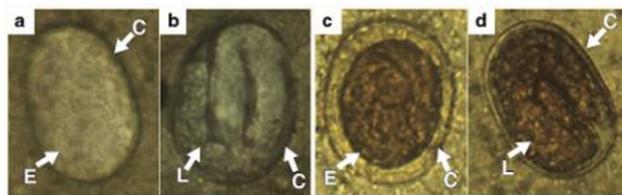
Strongyloides stercoralis nejsou jedinými druhy *Strongyloides* parazitujícími na lidech. Diagnostika se u lidí provádí obtížně zvláště kvůli malému počtu larev. Provádí se obvykle kultivací na aktivním uhlí, agarové plotně, filtračním papíru nebo přímým nátěrem. (Hasegawa et al. 2009).



Obrázek 5: Snímky jsou zobrazeny diferenciací infračerveným kontrastem. Vlevo volně žijící samec; uprostřed volně žijící samice; vpravo infekční L3 (Zhou et al. 2019)

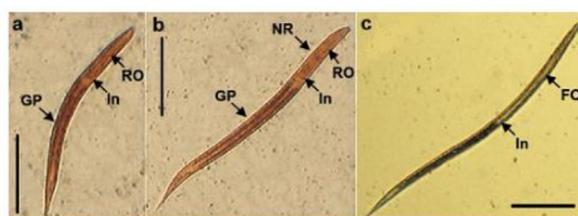
3.7 *Strongyloides venezuelensis* a *S. ratti* (Sandground, 1925)

Tato hlístice parazituje ve střevech krys a potkanů, jehož výskyt je hlášen z více částí světa. Bylo zjištěno, že do volného prostředí se dostávají vajíčka. Při pokusu líhnutí vajíček ve sterilním prostředí se 25 % vajíček vylíhlo při 37 °C, avšak larvy uhynuly ještě v prvním stádiu. Po 48 hodinách po inkubaci se zbývající většina vajíček rozpadla. Do prostředí se dostávají vajíčka v různém stupni vývoje (viz Obrázek 6). Při teplotě 0 °C se vajíčka ve sterilním prostředí nelíhla vůbec (Beak et al. 1998).



Obrázek 6: Vývojová stádia vajíček *Strongyloides venezuelensis* získaných z faeces infikovaných potkanů Wistar; a,c) bez barvení; granulovaná vajíčka embryí; b,d) Lugolovo barvení; larvální vajíčka (Tobar et al. 2020)

Toto háďátko slouží jako model pro vyšetřování onemocnění u lidí způsobené *S. stercoralis*. Vývojový cyklus a migrační vzorec *S. venezuelensis* je velice podobný u *S. ratii*. U obou parazitů se vyskytuje transmamární přenos. Největším rozdílem je menší patogenita u *S. venezuelensis* a k propuknutí onemocnění je potřeba vyšší koncentrace larev. Lze je využívat v experimentálních výzkumech, které vedou ke zlepšení strategií kontroly strongyloidózy, optimalizaci molekulárně biologické analýzy a znalostí o interakcích mezi hostitelem a parazitem, které slouží k terapeutickým testům, k získání heterologních antigenů a k získu imunologických technik. Partenogenetické samice byly nalezeny v tenkém střevě. Jejich jícen je též filariformního typu jako u L3. Zaujímá jednu třetinu délky těla. Koncová část jícnu je spojena přímo se střevem. Přední část těla s chitinovými výběžky je zaoblena. Zadní část tvoří špičatý ocas (viz Obrázek 7) (Tobar et al. 2021).



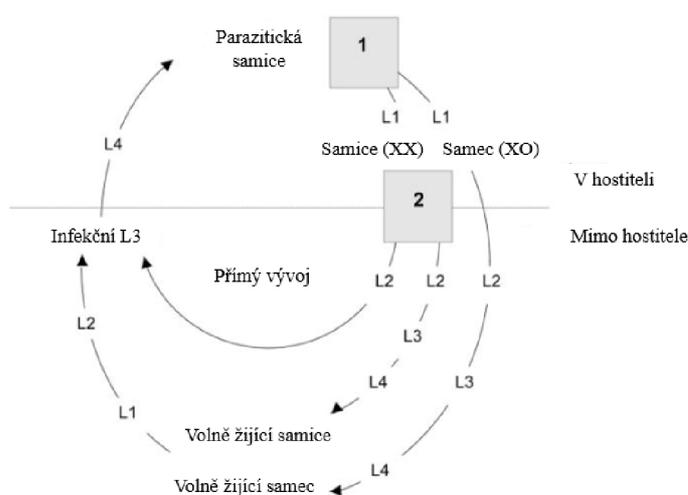
Obrázek 7: Stádia larev *S. venezuelensis* získaných z kultur stolice infikovaných potkanů Wistar, a) L1, b) L2, c) L3; měřítko 100 μm . RO: rhabditoidní jícen, FO filariformní jícen, NR: nervový prstenec, In: střevo, GP: genitální primordium (Tobar et al. 2020)

Bylo prokázáno, že délku těla iL3 a následně i dospělých samic výrazně ovlivnil způsob kultivační metody in vitro (viz Obrázek 8). Výrazně větší délka těla u iL3 byla pozorována u kultivační metody na filtračním papíře, kdy průměrná délka byla $597,3 \pm 32,2 \mu\text{m}$. Ve fekálních L3 dosahovaly $509,9 \pm 35 \mu\text{m}$, zatímco v živém bujónu dosahovaly pouze $503,3 \pm 31,0 \mu\text{m}$. Nejen chemické médium, ale i inkubační teplota ovlivňuje rychlost líhnutí a metamorfózy larev. Vývoj iL3 do stádia parazitických dospělců však závisí i na faktorech, které se týkají hostitele, tj. věk, druh, pohlaví a odolnost. U parazita je důležitý kmen, kultivační věk L3 a infekční dávka (Islam et al. 1999). U těchto dvou zmiňovaných druhů hlístic se objevuje i hypobióza, která je klíčem pro transmamární přenos (Viney & Lok 2015).

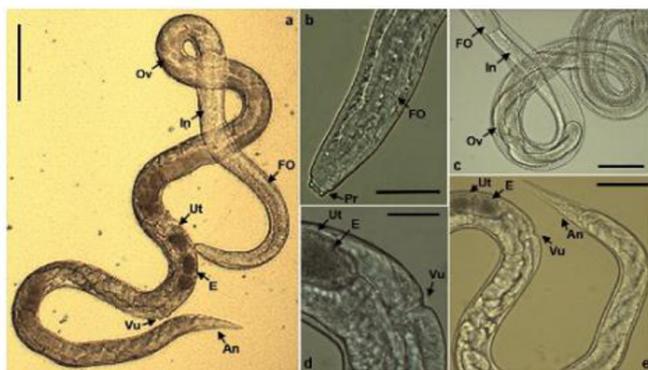
Parametry (v μm)	Kultivační metody <i>in vitro</i>		
	NBC ^{a)}	FC ^{b)}	FPC ^{c)}
Délka těla	503,3 \pm 31,0	509,9 \pm 35,0	597,3 \pm 32,2 ^{d)}
Délka jícnu	234,6 \pm 15,1	238,6 \pm 14,3	266,6 \pm 10,9
Délka ocasu	52,8 \pm 3,1	55,6 \pm 4,8	62,3 \pm 3,2
Šířka těla	15,3 \pm 1,3	15,8 \pm 1,0	17,7 \pm 0,7

Obrázek 8: Porovnání morfologických rozměrů iL3 z různých kultivačních metod; a) kultura živého bujónu; b) fekální kultura; c) kultura filtračního papíru; d) esofageálně-střevní spojení; e) $P < 0,05$. Hodnoty představují průměr \pm SD 50 L3; uvedené hodnoty jsou v μm (Islam et al. 1999).

Pohlavní genetická determinace je systém XX u samic a XO u samců, kteří mají pouze jeden chromozom X. Životní cyklus (viz Obrázek 9) začíná proniknutím iL3 (XX) do těla hostitele přes jeho kůži. Larvy podstupují naso-frontální migraci a dostávají se nejdříve do plic. Jsou vykašlány a spolknuty, tím se dostanou do cílového orgánu, kterým je tenké střevo. Během této migrace projdou svlekem a stanou se z nich larvy čtvrté generace, které dospívají v dospělé samice (XX). Ve střevech produkují vajíčka, ta se dostávají ven s výkaly do vnějšího prostředí. Z vajíček se líhnou larvy L1 (XX, XO), které mají dva potenciační osudy. L1 projdou nepřímým (heterogenním) životním cyklem a svlékají se až do čtvrté generace a stávají se z nich volně žijící rhabditoidní samice (XX) a samce (XO). Tento vývoj se též nazývá sexuální, rozmnožování probíhá pářením samice se samcem (viz obrázek 6). Tato volně žijící generace následně produkuje pouze iL3 (XX). Druhý přímý (homogonický) vývoj neboli asexuální spočívá v tom, že se z nakladených vajíček opět vylíhnou L1 (XX), ze kterých se přes L2 generaci stávají iL3 (XX), které jsou velmi odolné. V tomto stádiu přetrvávají tak dlouho, dokud se jim nepodaří proniknout do nového hostitele, ve kterém pak dokončují svůj vývoj a stávají se z nich dospělé samice (viz Obrázek 11 & 12), které se dále rozmnožují partenogenezí. Tyto samice plodí vždy identické jedince. Mezi larvami třetí generace sexuálního a asexuálního vývoje není patrný žádný rozdíl (Viney & Lok 2007).



Obrázek 9: Dvě osy vývoje potomstva parazitických samic; 1) určení pohlaví 2) vývojová osa pouze samic (Viney et al. 2007)



Obrázek 10: Partenogenní samice *S. venezuelensis*. a) celý pohled (měřítko 100 μm). b) hlavová část (měřítko 20 μm). c) střední část měřítko 50 μm . d) pohlavní část (měřítko 20). e) koncová část (měřítko 50). FO: filariformní jícen, In: střevo; Ov: vaječník; Ut: děloha; E: vajíčko; Vu: vulva; An: anus; Pr: projekce (Tobar et al. 2020)



Obrázek 11: Parazitická samice *S. ratti*. Měřítko 30 μm . (Viney et al. 2007)

3.8 *Strongyloides westeri* (Ihle, 1917)

Jedná se o hlístici cizopasící v tenkém střevě koní především hříbat do 4 měsíců věku (Miller et al. 2017) Vyskytuje se v Evropě a Asii. Vajíčka se vyvíjejí a líhnou v teplotách 15-35 °C při 50-100% vlhkosti. Vývojový cyklus může probíhat sexuálně i asexuálně (Islam et al. 1999). Vajíčka volně žijících jedinců, kteří se rozmnožují sexuálně, jsou o 3,7 % menší a o 19,6 % užší než vajíčka od parazitních samic rozmnožujících se partenogenezí. Filariformní larvy se nejlépe vyvíjejí při teplotě 30 °C, zatímco rhabditoidním larvám postačí 20 °C (Gugosyan et al. 2018)

Hříbata se mohou nakazit perkutánním průchodem hlístice nebo při orálním požití při sání mléka, ve kterém se nacházejí iL3. Larvy totiž u klisen putují do mléčných žláz v pozdní fázi březosti (Kirtland et al. 2023). Při perkutánní infekci dochází k podráždění kůže a objevuje se syndrom „zběsilého chování“. Příčinou je svědicí kůže při migraci larev kůží. V některých případech může dojít až k úmrtí hříběte (Miller et al. 2017). Mezi další příznaky infekce patří akutní průjem, respirační problémy a slabost (Abbas et al. 2021).

Faeces pro vyšetření se odebírají přímo z rekta nebo z podestýlky. Prevalence této hlístice u hřebců a klisen se zvýšila porovnáním s údaji z roku 1993, v tomto období dosahovala prevalence pouze 6 % u 11 farem. V roce 2002 a 2004 došlo k jejímu snížení. Zatímco v roce 2014 prudce vzrostla a činila až 49 % u klisen a hřebců na tentýž farmách. U hřibat se prevalence na devíti farmách pohybovala okolo 15 % a v dalších čtyřech přibližně 20-51 % (Lyons & Tolliver 2014). Další chovné farmy z Kentucky hlásily 30% prevalenci *S. westeri* u hřibat. (Kirtland et al. 2023).

Onemocnění není závažné (Thamsborg et al. 2017) způsobuje především průjem (Lyons & Tolliver 2014). U hřibat ve věku jednoho až dvou týdnů se mohou preventivně podávat anthelmintika (Urquhart et al. 1996). Klisnám, kterým byl v den porodu podán ivermektin, porodily hřibata s menším výskytem vajíček *S. westeri* ve faeces, než u klisen, které léčeny nebyly (Ludwig et al. 1983). Široké podávání ivermektinu a thiabendazolu se prevalence *S. westeri* snížila až o 90 % (Miller et al. 2017).

3.9 Ostatní druhy *Strongyloides*

S. ransomi (Schwartz & Alicata, 1930)

Tento druh se vyskytuje u prasat, u kterých je způsobované nepravidelné lehké onemocnění. Celkově u hospodářských zvířat není toto onemocnění důležité při používání anthelmintik a při dodržování dobré zoohygieny, nepředstavuje pro zvířata riziko (Thamsborg et al. 2017). Tento parazit je jedním z nejběžnějších hlístic vyskytujících se právě u prasat. Oslabuje imunitu a může zhoršovat jejich fyziologické ukazatele, což způsobuje ekonomické ztráty. U selat způsobuje ztrátu hemoglobinu, erytrocytů, albuminu a imunitní reakci (Boyko & Brygadyrenko 2017). Ekonomické ztráty způsobuje především snížením denního přírůstku. Podle síly infekce, jsou ztráty denního přírůstku variabilní. Čím silnější infekce, tím větší ztráty (Hale & Marti 1984).

Je prokázáno, že u prasnic jednorázová dávka ivermektinu aplikována 4-16 dní před porodem potlačuje přenos infekce na novorozená selata. (Urquhart et al. 1996). Životaschopnost hlístic také snižoval citral a benzaldehyd (Boyko & Brygadyrenko 2017).

S. papillosus (Wendel, 1856)

Je dobře známý rod hlístice vyskytující se celosvětově. Infikuje se u přežvýkavců (skot, ovce, kozy), dokonce i králíky. Ovšem údaje o přirozeně získané infekce jsou však vzácné (Romero et al. 2022). Autor Eberhardt et al. (2008) přišel s novými poznatky o *Strongyloides* vyskytujících se u přežvýkavců. Podle něj nejde o zcela identické druhy, ale jde zcela o odlišné formy populací, jelikož nesou různé sekvence SSU. U skotu se mohou vyskytovat smíšené infekce, zatímco u ovcí se našel pouze jedna forma. Tímto důkazem navrhuje, aby se *Strongyloides* u skotu a *Strongyloides* u ovcí začaly považovat za zcela odlišné druhy. Název pro hlístice u ovcí by měl zůstat *S. papillosus*, zatímco převládající hlístice u skotu by se měla pojmenovat *S. vituli* (Eberhardt et al. 2008).

U telat způsobuje tzv. „náhlou smrt“. Úhyn je náhlý a rychlý, aniž by se předtím projevil klinické příznaky. Hlístice se nenacházeli pouze ve střevech, ale i ve svalech a plicích, ačkoliv ve tkáních nebyly pozorovány žádné závažné léze, které by vyloženě zapříčinily smrt. Ta byla

spojena se silnou infekcí *S. papillosus*. Tyto infekce se snížily po podání ivermektinu a thiabendazolu. Vyskytovaly se nejvíce v období od července do října (Thamsborg et al. 2017; Taira & Ura 1991).

U koz byly hlístice nalezeny v játrech, žlučníku, lymfatických uzlinách, bránici, slezině, myokardu, plicích, mozkové tkáni, ledvinách, játrech a svalech. Nejvíce hlístic bylo nalezeno u mladých koz starých 1,5 – 8 měsíců. I malý počet hlístic v organismu může způsobovat vážné poškození a léze ve tkáních. U koz byly hlístice nalezeny ve (Pienaar et al. 1999).

3.10 Strongyloidóza

Strongyloidóza je podceňovaná globální infekce na vzestupu, především v jižní a střední Evropě (Puthiyakunnon et al. 2014). Jedná se o jedno z hlavních onemocnění týkající se humánní i veterinární medicíny. Její výskyt je celosvětový. U zdravých jedinců způsobují *Strongyloides* jen malou patologii (Viney & Lok 2015). Je nedostatečně diagnostikovaným parazitárním onemocněním kvůli nízké parazitické zátěži a nejistými klinickými příznaky (Puthiyakunnon et al. 2014). Jak už je výše v práci zmíněno, u lidí se vyskytuje několik druhů strongyloidních hlístic. Mezi nejnámější a nejčastější druhy vyskytující se u lidí patří *S. stercoralis*, *S. füllebroni füllebroni* a *S. füllebroni kellyi*, které jsou pravděpodobně získány od subhumánních primátů. *S. f. kellyi* se vyskytuje pouze u lidí na Nové Guiney. Je známa pouze jedna krátká genová sekvence, což může zapříčinit nesprávné fylogenetické umístění. Stále zůstává nezodpovězeno, zda se *S. stercoralis* přenesla na člověka původně ze psů a koček. *S. stercoralis* se pravděpodobně přenesl ze psů na člověka, na kterého se adaptoval. Tento druh má však dva odlišné kmeny, z něhož jeden se vyskytuje pouze u psů. Druhý kmen se vyskytuje u lidí, psů, koček i subhumánních primátů. *S. f. füllebroni* obsahuje dva klady, které pochází z odlišných míst. První je spojený s africkými izoláty a další pochází z indočínského poloostrova. Podle nejnovějších údajů je infikováno přibližně 613,9 miliónů lidí. Jak už je zmíněno výše, lidi a domácí mazlíčky nejčastěji infikuje druh *S. stercoralis*. Představuje v mnoha případech celoživotní onemocnění. Mezi častými klinickými příznaky bývá průjem, s tím spojená bolest břicha a hubnutí. Podle místa infekce se mohou objevovat i dermatologické a respirační problémy (Bradbury et al. 2021). Dalším příznakem nákazy může být svědění nohou, sípání, horečka, kašel a zvracení (Marcelino et al. 2023). U imunosuprimovaných pacientů, léčených kortikoidy, představuje onemocnění velké riziko (Bradbury et al. 2021). Pokud u těchto jedinců dojde k nekontrolovatelnému autoinfekčnímu cyklu hlístic, což vzniká provrtáním larev skrz sliznici tlustého střeva a k reinfekci těla, nedochází tak k detekci parazita ve stolici. Cestování larev po celém těle může zapříčinit vznik diseminované infekce, což vede ke gastrointestinálnímu krvácení, meningitidě nebo sepsi. Při tomto stavu bývá úmrtnost až 80 % (White et al. 2019).

Stejně jako u lidí, se u zvířat při silné infekci objevuje těžký zápal sliznice v tenkém střevě. Toto onemocnění doprovází krvavé průjmy, hubnutí, nechutenství, srst je matná a naježená. Z příčiny ztráty krve dochází k chudokrevnosti. Toto onemocnění může vést až ke smrti zvířete. Léčebně se postiženým zvířatům podává Thiabendazol nebo Phenotiazin (Točka 1983). Mezi dalšími pozorovanými příznaky byly vpadlé oči, dehydratace, letargie a abnormální stolice (Pienaar et al. 1999)

Cílem do roku 2030, vyhlášeným světovou zdravotnickou organizací, je odstranění problému strongyloidózy, což bude ziskem pro veřejné zdraví. Bohužel dynamika přenosu na člověka z koček a psů, jakožto ze zvířecích rezervoárů, je prozatím nejasná. Pravděpodobně všechny zmíněné druhy mají zoonotický potenciál (Bradbury et al. 2021).

Dermatitida u lidí

Byl použit lidský dobrovolník, na kterém se prováděl možný přenos *Strongyloides myopotami* z nutrie. Infekční larvy byly získány z výkalů zmiňovaných druhů zvířat, pomocí filtračního papíru. Následně byly řádně promyty destilovanou vodou. Byly odděleny a izolovány v samostatné nádobě s evidenčním číslem. V každé nádobě byl určitý počet larev, který byl přesně spočítán, počet se pohyboval od 3 do 50 kusů. Pro infekci lidského dobrovolníka byla použita Beaverova metoda. Na část kůže levého předloktí byla položena malá podložka z gázy, na kterou se pomocí pipet přenesla voda s infekčními larvami. Podložka byla na kůži ponechána přibližně 30 minut. Po odejmutí byla vložena do nádoby s vodou. Voda byla prohledána pro určení počtu zbývajících larev. Obvykle se na podložkách žádné larvy nenašly. Tato metoda se opakovala 10 × během 14 dní. Při prvních šesti pozorování nebyla zaznamenána žádná reakce. 18 larev, které byly aplikovány na sedmý pokus, vyvolaly mírnou reakci téměř po 11 měsících. V době penetrace larev do kůže se objevilo svědění a po dvou hodinách se objevily malé papuly, které po 48 hodinách dosáhly svého maximálního rozměru. Měřily několik milimetrů a mizely až po 5 dnech. Šířka cestiček migrujících larev v kůži byla až 5 milimetrů a délka až 5 centimetrů. Cestičky se rozšiřovaly velmi rychle, postupovaly více než 10 milimetrů za 24 hodin. Svědění neustávalo. Po vymizení se za nějaký čas mohla dermatitis znovu objevit při tření kůže. Následné periodické vyšetření stolice bylo již negativní na *S. myopotami* (Little 1965). Podle Thamsborg et al. (2017) je však zoonotický pouze druh *S. stercoralis*.

3.11 Diagnostika, léčba a prevence

Diagnostika probíhá pomocí koprologického vyšetření čerstvých faeces na detekci vajíček a larev (Viney & Lok 2015), kultivace faeces na agarových plotnách, modifikovanou Ritchieho metodou a Baermanovou metodou (Marcelino et al. 2023). Parazitické samice lze detekovat vyšetřením tenkého střeva hostitele. Střevo se podélně otevře a odstraní se jeho obsah, Sliznice střeva se může prohlédnout kompresní metodou (zmáčknutím mezi dvě skleněné desky a mikroskopickým vyšetřením) nebo se střeva mohou vertikálně zavěsit v médiu (Viney & Lok 2015). Jako léčba se často používají vhodná anthelmintika nejlépe s obsahem ivermektinu, pyrantelu, thiabendazolu a fenbendazolu. Prevencí proti těmto parazitům je v chovech důkladná zoohygiena, dezinfekce letlampou nebo propanbutanovým hořákem (Mertin et al. 2005).

Světová zdravotnická organizace (WHO) zavedla sponzorovaný program na odstranění lymfatické filariózy, způsobovanou parazitickými hlísticemi *Wuchereria bancrofti* a *Brugia malayi*. Tyto programy vedou ke snížení prevalence a intenzity infekcí způsobovaných hlísticemi napadající střeva. Potenciál k rozvoji rezistence, na podávané léky, je riziko u parazitů s krátkým vývojovým cyklem. Studie Kotze et al. (2004) popisuje in vitro test pro

měření účinků ivermektinu a benzimidazolu na motilitu larev. Každý druh parazita má odlišný vztah mezi podanou dávkou a odezvou, přičemž byly prokázány různé a výrazné odezvy. Larvy byly získány z lidských faeces.

3.12 Molekulární analýza

Podle dat do roku 2015 se může definovat pět původů parazitismu u obratlovců, napříč třemi podtřídami, pomocí dostupných molekulárních dat. Rhabditida jsou hlavní skupina parazitující ve střevech a dýchacím systému obratlovců. Molekulární systematika hlístic je zkoumána přes více než 20 let. Bylo publikováno 10 sekvencí genomu hlístic, z čehož většina pochází právě z parazitů. Úzké spojení mezi parazity a jejich hostiteli vyvolalo otázku, zda nezískaly nové geny právě od svých hostitelů (Blaxter & Koutsovoulos 2015). Při diagnostice hlístic rodu *Strongyloides* se může pozorovat výrazné zlepšení metod genotypizace. Používají se základní molekulární přístupy při detekci hlístic, ale i Sangerovo sekventování, vysoce sofistikované výkonné sekventování, vícelokusové nebo sekventování celého genomu. Druh se může přesně určit pouze podle morfologie dospělé hlístice spolu se sekvencí již určených druhů (Bradbury et al. 2021). Modifikovaná technika McMaster je jednou z metod používající se při detekci vajíček ve faeces a jejich extrakci DNA, která charakterizuje částečný fragment malé podjednotky jaderné ribozomální DNA (18S) (Abbas et al. 2021).

Molekulární metody využívající druhově specifické genetické markery pomáhají k určení specifické identifikace druhu. Genomové sekvence referenčních kmenů *S. stercoralis* a *S. ratti* mohou posloužit pro definici většího souboru molekulárně genetických markerů nebo pro genetické vymezení mezi klonovou a sexuální reprodukcí a pro mapování lokusů kvantitativních vlastností (Streit 2007). Viney & Lok (2007) a Streit (2007) zařazují hlístice rodu *Strongyloides* na základě analýzy sekvenčních dat pro malou jednotku (SSU) jaderné ribozomální DNA do „kladu IVa“. Jedná se o sesterský klad bezobratlých parazitických a rostlinných parazitických háďátek kladu IVb (Viney & Lok 2015).

Hypervariabilní oblasti I a IV genu 18S rRNA a vybrané části mitochondriálního genu *cox* (podjednotky I cytochrom c oxidázy), jsou nejčastějšími sekventovanými markery, které byly porovnány u několika hostitelů z různých geografických oblastí. Ke stanovení sekvence DNA byly použity dospělé samice, rhabditoidní larvy získané z faeces a filariformní larvy vyvinuté v kulturách. Byly promyty ve fosfátovém pufru s pH 7 a použity pro extrakci DNA. Larvy, které nebyly rovnou použity, byly fixovány ve 100% ethanolu při -30 °C. Pro analýzu sekvence DNA u *S. myopotami* byly pro extrakci použity parazitické samice a filariformní larvy a pro *S. ratti* pouze filariformní larvy. Pro *S. stercoralis* získané od lidí, psů a šimpanzů, byly použity parazitické samice, filariformní i rhabditoidní larvy. V Japonsku byla extrakce DNA z fixovaných larev provedena pomocí fenol-chloroformové metody nebo NaOH metody. Hlístice byla inkubována při 95 °C ve 20 µl 0,02 N roztoku NaOH po dobu 10 minut. 2 µl z tohoto roztoku byly přendány do 50 µl roztoku polymerázové řetězcové reakce neboli PCR testu. Cílová oblast DNA byla amplifikována pomocí polymerázy TaKaRa Ex TaqTM nebo polymerázy KOD-Ver2TM a programovatelného tepelného regulátoru. Vhodné použité podmínky pro PCR byly: 95 °C po dobu 1 minuty, poté 10 cyklů při 94 °C 1 minutu, 40 °C 1 minutu, 72 °C 2 minuty, dalších 30 cyklů při 94 °C 1 minutu, 45 °C 2 minuty, 72 °C 2 minuty

a amplifikační prodloužení 7 minut a 72 °C. PCR produkty byly podrobeny elektroforéze v 1,5% agarovém gelu a zobrazovány barvením ethidium bromidem. Z gelu byly získány pomocí SUPRECIN.01 a následně vysráženy ethanolom. Následovalo odstředění, vakuové sušení, rozpuštění v destilované vodě, amplifikace za použití jednoho primeru, centrifugace a sekvence. Nukleotidové sekvence byly uloženy do databáze DNA. Variabilní sekvence byly promítnuty do grafu. Uspořádání nukleotidů pro *S. myopotami* v hypervariabilní oblasti (HVR) IV v 18S rDNA je AAAT GTTATTATTT -----TTTA ----- - AATAATAACT -ATTT (pomlčky znamenají nepřítomnost nukleotidu). Jednalo se o nejkratší HVR-II (Hasegawa et al. 2009). Mori et al. (2024) vyvinuli jednodušší (Mori et al. 2024) neinvazivní metodu pro detekci *S. myopotami*, u které nebyla nutná eutanázie zkoumaných jedinců a nebyla nutná ani kultivace larev. DNA byla extrahována přímo z nalezených vajíček. Pro detekci bylo potřeba pouze malé množství faeces, které byly vyšetřovány pomocí cukerné modifikované flotační metody. Vzniklý vzorek zmiňované metody zkoumali světelnou mikroskopií. Z pozitivního vzorku byla izolována vajíčka, která byla jednou nebo dvakrát promyta vodou. Purifikovaná vajíčka byla resuspendována v 1 až 2 ml fosfátem pufrovaného fyziologického roztoku. Následně byly vzorky pětikrát zmrazovány a rozmrazovány, přičemž před každým zmrazením byla vajíčka rozbita vortexováním (silným třepáním) po dobu 10 sekund. Následně byly spojeny vzniklé supernatany a pomocí soupravy QIAamp DNA Mini kit byla extrahována DNA dle instrukcí výrobce. Dále byly navrženy tři nové sady primerů k molekulární identifikaci *S. myopotami* (viz Obrázek 12).

StMyo F1	ACTGAGGTAATTCTTGAGCTAATACAC	}
StMyo R1	TAATCATGAAAAAGATTAGTGAAACC	
StMyo F2	CCAATTTTAGTTAAAAGAGGTAGTGAC	}
StMyo R2	AACCTCTAACTTTCGTTCTTGATTA	
StMyo F3	TCTTCAAGTTTAAATAACTTGTTGGTA	}
StMyo R3	AATTCATACACCTAGTAGGCATAGTTT	

Obrázek 12: 3 nové sady primerů k molekulární identifikaci *S. myopotami* (Mori et al. 2024)

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Materiál

Samotný experiment se skládal z více částí. Hlavními výzkumnými materiály byly nutrie infikované hlísticemi rodu *Strongyloides* druhu *S. myopotami*, které sloužily k získání faeces a zažívacích traktů s obsahy. Všechny tyto materiály byly určeny k získání vajíček, larválních stádií a dospělců zmiňované hlístice.

4.2 Studijní pozadí

Nutrie chované pro výzkum této studie byly ustájeny v Demonstračním a experimentálním pracovišti ČZU v experimentální části pro králíky. Zvířata byla držena při teplotě 19-20 °C v kleci, přičemž polovinu dna vystýlala sláma a druhou polovinu dna tvořily dlaždice pro lepší zajištění dobré zoohygieny. Nutrie měly k dispozici vodu *ad libitum*. Posloužily k tomu dvě nádoby s vodou a napáječka. Další dvě nádoby byly vystlané senem (sloužící k odpočinku). Krmná dávka byla velmi pestrá, skládala se z obilovin, bylin, zeleniny, ovoce a trochou pečiva. Část klece, kde se nacházely nádoby na odpočinek, byla zakrytá, aby byl zvířatům dopřán úkryt a klid k odpočinku. Při čištění klece se vždy část znečištěné podestýlky zachovala a byla ponechána v kleci, kvůli nutné reinfekci zvířat zmiňovaným parazitem. Pro potvrzení infekce byla využita koprologická metoda z čerstvě odebraných faeces chovaných nutrií, které měly veškerá potřebná povolení SVS i MŽP (podrobněji v kapitole 4.3.8 Etické úvahy).

4.3 Metodika

4.3.1 Získání infekčních nutrií

Počátek experimentu závisel na nalezení chovu nutrií, který byl přirozeně infikovaný druhem hlístic *Strongyloides myopotami*. Tento chov pocházel z chovné farmy z České republiky. Po nalezení již zmiňovaného chovu se dělalo několik koprologických vyšetření faeces, z odlišných sekcí chovu, pomocí Cornell-Wisconsinovy metody. Cílem bylo najít sekci s nejvyšší prevalencí. Po stanovení nejvíce infikované sekce, byly odkoupeny 3 samice nutrie ve věku sedmi a pěti měsíců, které byly potencionálním předmětem infekce. Chovná farma z Měřína využívá chovu nutrií pouze pro genovou rezervu,

Jedna samice 14 dní po převezení zahynula. K experimentu byly nadále používány další dvě samice, které posloužily k produkci infekčního materiálu, který byl pro tento experiment základem.

Důležitý byl i zisk volně žijících nutrií, které byly zastřeleny v Benešově ve Středočeském kraji. Byla poskytnuta buď celá zvířata nebo pouze jejich trávicí trakt, který zahrnoval žaludek a střeva. Tyto orgány dále sloužili k získání dospělých parazitických samic.

4.3.2 Získání infekčních výkalů

Jelikož nebylo možné odebírat faeces přímo z rekta, ani chovat zvířata na zcela čistém povrchu, odebíraly se čerstvé faeces z podlahy několik minut po defekaci. Prvním krokem bylo důkladně vyčistit a opláchnout (ne sterilizovat) povrch výběhu a především místo, kde nutrie vykonávaly svou potřebu. Zaznamenal se čas dokončení úklidu a následný odchod. Světlo v místnosti se nechalo rozsvícené pro stimulaci aktivity zvířat. Každých 15 až 20 minut byl výběh kontrolovaný. Jakmile se objevily faeces, zaznamenal se čas defekace. Od tohoto času se pak zaznamenávala následná doba vývoje. Faeces se daly do kádinky s vlažnou vodou, kvůli zbavení se nalepených nečistot a volně žijících stádií parazita, která se běžně vyskytovala na podlaze výběhu. Čerstvé faeces byly ihned odneseny do laboratoře ČZU a dále zpracovávány podle potřeby aktuálního výzkumu.

4.3.3 Vývoj vajíček

Vajíčka pro záznam vývoje byla izolována z faeces od chovaných nutrií pomocí koprologické Cornell-Wisconsinovy metody. Po 10 minutách, kdy se zkumavky nechaly odstát, se odejmulo krycí sklíčko a vše co na něm zbylo, se bez prohlížení smylo redestilovanou vodou do větší zkumavky (50 ml). Z každé zkumavky se svrchu ještě odebral cca 1 centimetr flotačního roztoku od okraje a byl přidán do nové zkumavky. Zkumavka se doplnila do plna redestilovanou vodou a vložila se do centrifugy po dobu 5 minut na 1 000 RMP. Po stočení se odsávačkou odstranila většina svrchní kapaliny tak, aby se neodstranila i vajíčka, která se nacházela na dně. Zkumavka se opět doplnila redestilovanou vodou a celý proces se opakoval. Po druhém odebrání svrchní kapaliny zůstala ve špičce zkumavky stočená vajíčka. Pomocí pipety se přendala do jamek mikrotitrační destičky, ve které následně pomocí počítačového programu byl nahrán videozáznam vývoje získaných vajíček. Vždy byl zaznamenán čas zapnutí nahrávání. Posledním krokem bylo zhlédnout záznamy a zaznamenat dobu líhnutí vajíček. Doba líhnutí se zaznamenávala vždy od defekace, kdy se vajíčka dostala do vnějšího prostředí až po samotné vylíhnutí. Vajíčka byla inkubována při teplotě 23 °C a 45% vlhkosti.

Cornell-Wisconsinova metoda

- 1) Odvážení 4 g z každého získaného vzorku.
- 2) Vložení odvážené části do třecí misky (pokud je vzorků více, každý se dá zvlášť).
- 3) Přilítí 15 ml bentonitu (7 g/1000 g H₂O) a vytření do kašovitě konzistence.
- 4) Vzniklá suspenze se převede přes čajové síto do kádinky, z které je poté odměřeno 10 ml suspenze, ta se přelije do zkumavky 15 ml)
- 5) Vložení zkumavek do centrifugy na 1 200 RPM po dobu 5 minut.
- 6) Vzniklý supernatan se slije tak, aby ve zkumavce zůstal pouze sediment.
- 7) Přibližně do poloviny zkumavky se přidá flotační roztok FAO, s.g. 1,28 (nasycený roztok NaCl, 360 g NaCl/1000 ml H₂O + 500 g glukózy) a důkladně se promíchá se sedimentem, aniž by došlo ke vzniku bublin.
- 8) Doplnění FAO až po okraj zkumavky tak, aby nad hranou vznikl malý oblouk.

- 9) Na vzniklý oblouk se položí krycí sklíčko.
- 10) Vložení do centrifugy na 1 200 RPM po dobu 5 minut.
- 11) Vyndání zkumavek, vložení do stojanu na 10 minut.
- 12) Po 10 minutách se může začít s vyšetřováním.
- 13) Na podložní sklíčko se kápne kapka vody, na kterou se položí krycí sklíčko ze zkumavky.

4.3.4 Získání larválních stádií

Larvální stadia se získávala z koprokultury infikovaných faeces a následně pomocí Baermanovy metody.

Založení koprokultur

Čerstvě odebrané faeces se smíchaly v čistém sáčku s pilinami přibližně 1:1. Vzniklá kultura nesměla být suchá ani promáčená. Optimální byla vlhká, drobivá konzistence, která zajistila optimální výměnu vzduchu. Pokud se sáček zavřel, musel se opakovaně otevírat a vždy promísit, aby se k larvám dostal dostatek vzduchu a nedocházelo tak anaerobním podmínkám a hypoxii. Sáček byl vložen do termostatu, kde bylo přibližně 25-26 °C. K zajištění stále vlhkosti se k sáčku přidala nádoba s vodou. Larvy se nechaly vyvíjet dle potřeby. K získání larev z koprokultury se používala již zmiňovaná Baermanova metoda.

Baermanova metoda

Kultury výkalů byly zabaleny do vrstvy gázy, ta následně byla položena do trychtýře s vodou, který vedl do zkumavky. Tato technika umožnila larvám migrovat přes gázu směrem dolů na dno zkumavky. Počet hodin, kdy se larvy nechaly migrovat a vyvíjet, závisel na požadovaném stupni vývoje. Pokud vzorky ve stanovenou dobu nebyly ihned prozkoumány, byly uchovány v lednici. Nižší teplota zpomalila či téměř zastavila vývoj.

4.3.5 Získání dospělých samic

Po usmrcení nutrií byla vypreparována břišní dutina, vyjmul se žaludek a střeva. Žaludek byl podélně rozříznutý a rozdělen na dvě poloviny. Obsahy z těchto orgánů byly promyty vodou a filtrovány přes 0,050 mm síto. Výsledná tekutina byla v nádobách se zúženým špičatým dnem uchována v lednici. Při nízké teplotě samice klesly do špičky dna. Přebytečná horní tekutina se tak mohla odčerpat. Tím se zmenšil vzorek nutný k prohledání. Vzorky byly pozorovány stolním mikroskopem pod zvětšením 40×. Nalezené samice se vyjmuly a přendaly na samostatné sklíčko, na kterém byly měřeny a foceny pomocí počítačového programu.

4.3.6 Měření vajíček, larev a dospělých samic

U vajíček se měřila pouze délka a šířka. Zatímco u jednotlivých hlístic se měřila délka těla, šířka těla, délka jícnu a střev, vzdálenost mezi anusem a špičkou ocasu. Délka jícnu se měřila od úst (od začátku hlavové části hlístice) až po konec jícnu, kde se napojují střeva. Larvy

byly znehybněny kápnutím dvou kapek Lugolova roztoku na kraj krycího sklíčka nebo rovnou do preparátu.

4.3.7 Statistická analýza

Veškerá číselná data byla zpracována v programu STATISTICA pomocí základních popisných statistik. Určoval se průměr, medián, minimální a maximální jednotka.

4.3.8 Etické úvahy

Použité metody byly certifikovány a schváleny pro experimentální zvířata Státní veterinární správou (Č.j. SVS/2023/112879-A) a Ministerstvem životního prostředí (MZP/2023/630/1982). Všechny experimenty byly přizpůsobeny principu tří R a principu pěti svobod.

5 VÝSLEDKY

5.1 Vývoj vajíček

Čas líhnutí byl zaznamenán od doby, kdy se vajíčka dostala do vnějšího prostředí (tj. kdy byla vykálena) do doby, kdy se z vajíčka začala líhnout L1 (viz Tabulka č 1 a 2).

Tabulka 1: Záznam líhnutí vajíček

	N záznamů (ks)	N líhnutí (ks)	Průměr	Medián	Minimum	Maximum
Líhnutí	6	47	4.59	5.10	2.50	8.00

*Veškeré číselné údaje jsou uvedeny v časovém formátu „hodina.minuta“ u druhu *S. myopotami*, pokud není uvedeno jinak. Tento formát udává za kolik hodin a za kolik minut došlo k vylíhnutí vajíček. Zkratkou „ks“ je uvedený počet videozáznamů a počet líhnutí.*

V této tabulce č. 1 je souhrn líhnutí nafilmovaný na šesti videozáznamech. Celkem bylo zaznamenáno 47 líhnutí larev *S. myopotami*. Průměrná doba, za jakou se larvy vylíhly, byla 4 hodiny 59 minut. Nejdelší líhnutí trvalo 8 hodin a nejkratší pouze 2 hodiny 50 minut.

Tabulka 2: Jednotlivé záznamy líhnutí vajíček

Záznam	N líhnutí (ks)	Průměr	Medián	Minimum	Maximum
1	1	8.00	8.00	8.00	8.00
2	3	4.55	4.54	4.38	5.14
3	16	44.11	3.59	2.50	6.20
4	11	5.27	5.25	4.50	6.25
5	4	5.13	5.14	5.06	5.19
6	12	5.16	5.08	4.55	5.15

Veškeré číselné údaje jsou uvedeny v časovém formátu „hodina.minuta“, pokud není uvedeno jinak. Tento formát udává za kolik hodin a za kolik minut došlo k líhnutí vajíček. Zkratkou „ks“ je uvedený počet zaznamenaných líhnutí.

Tato tabulka č. 2 udává přehled v jednotlivých záznamech líhnutí larev *S. myopotami*. Celkem bylo natočeno šest záznamů, ve kterých byla zaznamenána jednotlivá vylíhnutí. U jednotlivých záznamů je uvedený počet líhnutí (N líhnutí), průměrný čas, medián, minimální a maximální čas vylíhnutí, vše vždy z konkrétního záznamu, který je očíslovaný od 1-6. Nejdelší doba líhnutí byla natočena na záznamu č. 1, naopak nejkratší doba líhnutí byla natočena na záznamu č. 3.

5.2 Morfologie vajíček, larev a dospělých samic

5.2.1 Vajíčka

Vajíčka měla elipsovitý tvar. Podle stupně vývoje bylo možné pozorovat uvnitř vajíčka zrnitou strukturu nebo již stočenou larvu (viz Obrázek 13). Číselné hodnoty naměřených morfologických dat jsou uvedeny v Tabulce č. 3.

Tabulka 3: Morfologická data vajíček

	N měření (ks)	Průměr	Medián	Minimum	Maximum
Délka	92	54,26	54	48	62
Šířka	63	28,03	28	20	33

*Veškeré číselné hodnoty jsou uvedeny v mikrometrech (μm) u druhu *S. myopotami*, pokud není uvedeno jinak. Zkratka „ks“ uvádí počet měřených vajíček.*

Tabulka č. 3 udává přehled naměřených hodnot výšky a šířky vajíček *Strongyloides myopotami*. Celkem bylo naměřeno 92 kusů vajíček pro délku a 63 kusů pro šířku. Délka se pohybovala v rozmezí 48-62 μm s průměrnou hodnotou 54,26 μm . Průměrná šířka byla 28,03 μm . Nejužší vajíčka měřila 20 μm a nejširší 33 μm .



Obrázek 13: Vajíčko *S. myopotami* s viditelnou larvou. Měřítka 50 μm . (vlastní foto autorky)

5.2.2 Larvy 1. generace (L1)

Z vajíček se líhly larvy první generace (L1) (viz Obrázek 14). Jednalo se o malé hlístice s protáhlým tělem a zakulacenou hlavovou částí. Konec těla byl zakončený kratším špičatým ocasem. Jícen měl rhabditoidní tvar a navazoval přímo na střevo, které vedlo středem těla. Anus se nacházel kraniálně od špičky ocasu. Číselné hodnoty naměřených morfologických dat jsou uvedeny níže v Tabulce č. 4.

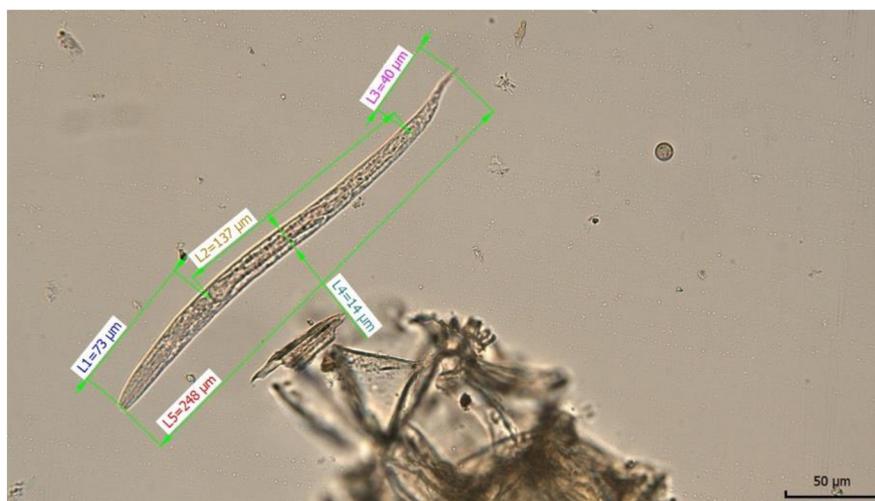
Tabulka 4: Morfologická data larev 1. generace

	N měření (ks)	Průměr	Medián	Minimum	Maximum
Délka těla	15	260,8	264	182	287
Šířka těla	15	15,27	15	12	18
Jícen (od zač. úst)	14	74,79	76	68	79
Délka střev	13	164,50	167	137	188
Anus od špičky ocasu	13	27,50	26	16	45

*Veškeré číselné hodnoty jsou uvedeny v mikrometrech (μm) u druhu *S. myopotami*, pokud není uvedeno jinak. Zkratkou „ks“ je uvedený počet larev, u kterých byla konkrétní hodnota měřena.*

Tabulka č. 4 udává přehled naměřených hodnot délky těla, šířky těla, délky jícnu, délky střev a vzdálenost rekta (anu) od špičky ocasu.

Larvy dosahovaly délky v rozmezí 182–287 μm s průměrem 260,8 μm . Šířka těla se průměrně pohybovala 15,27 μm v rozmezí 12–18 μm . Rhabditoidní jícn měřil průměrně 74,79 μm (v rozmezí 68–79 μm). Maximální naměřená délka střev byla 188 μm a minimální 137 μm , průměrně však dosahovala 164,50 μm . Anus byl od špičky ocasu vzdálen v 16–45 μm , průměrně 27,50 μm .



Obrázek 14: L1 *S. myopotami* (vlastní foto autorky)

5.2.3 Larvy 2. generace (L2)

Tyto larvy vznikly po svleku larev 1. generace, od kterých se na první pohled příliš neodlišovaly. Hlavová část byla opět zakulacena a zadní část těla byla ukončena špičatým ocasem. Rozdílné byly však naměřené morfologické hodnoty (viz Tabulka č. 5), které dosahovaly vyšších čísel.

Tabulka 5: Morfologická data larev 2. generace

	N měření (ks)	Průměr	Medián	Minimum	Maximum
Délka těla	35	349,00	331,0	285	488
Šířka těla	35	17,37	18,0	13	22
Délka jícnu	36	88,69	83,0	58	139
Délka střev	34	209,79	189,5	133	333
Anus od špičky ocasu	35	45,14	47,0	15	74

*Veškeré číselné hodnoty jsou uvedeny v mikrometrech (μm) u druhu *S. myopotami*, pokud není uvedeno jinak. Zkratkou „ks“ je uvedený počet larev, u kterých byla konkrétní hodnota měřena.*

Tabulka č. 5 udává naměřené hodnoty délky těla, šířky těla, délky jícnu, délky střev a vzdálenost rekta (anu) od špičky ocasu.

Délka těla byla průměrně 349 μm (v rozmezí 285-488 μm) s průměrnou šířkou 17,37 μm (v rozmezí 13-22 μm). Jícen byl stále rhabditoidního tvaru a průměrně dosahoval délky 88,69 μm (v rozmezí 58-139 μm). Střevo byla dlouhá minimálně 133 μm , maximálně 333 μm . Průměrná délka střev byla 209,79 μm . Anus byl od špičky ocasu vzdálen průměrně 45,14 μm (v rozmezí 17–74 μm).

Larvy 3. stádia rhabditoidního typu (L3)

Larvy rhabditoidního typu vznikaly po svleku larev 2. generace a dospívaly po čtvrtém svleku do volně žijících samic a samců. Pohlavní dimorfismus se v této fázi zatím neodlišuje. Jednalo se o delší a širší larvy (viz Tabulka č. 6).

Tabulka 6: Morfologická data larev 3. generace rhabditoidního typu

	N měření (ks)	Průměr	Medián	Minimum	Maximum
Délka těla	18	593,00	595	513	669
Šířka těla	19	20,26	20	14	26
Délka jícnu	19	122,37	116	91	175
Délka střev	18	394,83	394	302	488
Anus od špičky ocasu	18	58,00	57,5	20	107

*Veškeré číselné hodnoty jsou uvedeny v mikrometrech (μm) u druhu *S. myopotami*, pokud není uvedeno jinak. Zkratkou „ks“ je uvedený počet larev, u kterých byla konkrétní hodnota měřena.*

Tabulka č. 6 udává naměřené hodnoty délky těla, šířky těla, délky jícnu, délky střev a vzdálenost rekta (anu) od špičky ocasu. Velikostně se tyto larvy pohybovaly od 513–669 μm , průměrně 593 μm . Široké byly minimálně 14 μm a maximálně 26 μm , průměrně 20,26 μm . Rhabditoidní jícen byl dlouhý průměrně 122,37 μm (v rozmezí 171–182 μm). Střevo

navazovala přímo na jícen a byla dlouhá průměrně 394,83 μm . Tato délka se pohybovala v rozmezí od 302 μm do 488 μm . Anus ležící kraniálně byl od špičky ocasu vzdálen v rozmezí 20–107 μm , průměrně 58 μm .

5.2.4 Larvy 3. stádia filariformního typu (iL3)

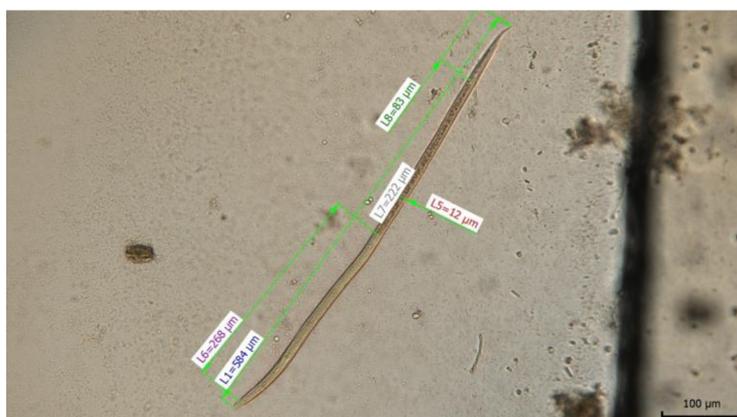
Tyto larvy též vznikaly po svleku larev 2. generace. Od larev 3. generace rhabditoidního typu se lišily v mnoha směrech. Například se od L3 odlišují svou morfologií (viz Tabulka č. 7). Larvy byly dlouhé a úzké se značně dlouhým a rovným jícnem bez záhybů, který zasahoval přibližně do poloviny těla (viz Obrázek 15). Střevo bylo kratší než u ostatních generací larev a navazovalo přímo na jícen. Hlavová část byla zakulacená a koncová část měla špičatý ocas.

Tabulka 7: Morfologická data larev 3. generace filariformního typu

	N měření (ks)	Průměr	Medián	Minimum	Maximum
Délka těla	31	698,42	707	564	797
Šířka těla	25	16,20	16	12	25
Délka jícnu	33	307,12	317	206	360
Délka střeva	33	318,94	321	222	405
Anus od špičky ocasu	33	64,33	58	24	112

*Veškeré číselné hodnoty jsou uvedeny v mikrometrech (μm) u druhu *S. myopotami*, pokud není uvedeno jinak. Zkratkou „ks“ je uvedený počet larev, u kterých byla konkrétní hodnota měřena.*

Tabulka č. 7 udává naměřené hodnoty délky těla, šířky těla, délky jícnu, délky střev a vzdálenost rekta (anu) od špičky ocasu. Filariformní larvy dosahují délky 564 μm až 797 μm , průměrná hodnota byla 698,42 μm . Minimální hodnoty šířky byly 12 μm a maximální 25 μm , průměr byl 16,20 μm . Jak je uvedeno výše, jícen byl rovný bez záhybů a měřil až 360 μm . Minimální délka byla 206 a průměr 307,12 μm . Střevo navazující přímo na jícen měřilo 222- 405 μm , průměrně 318,94 μm . Průměrně bylo tedy kratší než u rhabditoidních L3. Anus se nacházel od špičky ocasu v průměrné vzdálenosti 64, 33 μm (v rozmezí 24-112 μm).



Obrázek 15: iL3 s filariformním jícnem (vlastní foto autorky)

5.2.5 Dospělé parazitické samice

Dospělé samice, které byly nalezeny v duodenu, byly velmi dlouhé (viz Obrázek 16). Jícen měly filariformního typu. Hlavová část už nebyla tak zřetelně zakulacená a byla tenčí než konečná část, která končila špičatým ocasem. Střevo byla napojena na jícen a v přední části se začala postupně rozšiřovat. Samice měla dva dlouhé vaječníky, které vedly rovně kolem střeva. Jeden směřoval kraniálně k jícnu přibližně od poloviny střev a druhý kaudálně ke konci střev. Děloha, ležela mezi vaječníky píše v zadní polovině těla, byla krátká a nacházela se v ní zrající vajíčka. U prostřední části dělohy se nacházela vulva. Naměřené hodnoty těla samic se nacházejí v Tabulce č. 8.

Tabulka 8: Morfologická data dospělých parazitických samic

	N měření (ks)	Průměr	Medián	Minimum	Maximum
Délka těla	10	4 542,9	5 050,5	2 068,0	5 707,0
Šířka těla	10	37,8	38,5	27,0	48,0
Délka jícnu	3	1 166,3	1 153,0	1 056,0	1 290,0

*Veškeré číselné hodnoty jsou uvedeny v mikrometrech (μm) u druhu *S. myopotami*, pokud není uvedeno jinak. Zkratkou „ks“ je uvedený počet larev, u kterých byla konkrétní hodnota měřena.*

V tabulce č. 7 jsou vidět naměřené morfologické hodnoty parazitických samic a jejich délky těla, šířky těla, délky jícnu a vzdálenost rekta (anu) od špičky ocasu. Celkem bylo získáno pouze 10 samic. Samice byly dlouhé průměrně 4 542,9 μm (tj. 4, 5429 mm). Délka se pohybovala v rozmezí 2 068 – 5 707 μm . Šířka byla 27 μm až 48 μm (průměr 37,8 μm). Jícen byl velmi dlouhý a průměrně dosahoval 1 166,3 μm (v rozmezí 1 056 – 1 290 μm). Vaječník se podařilo naměřit pouze jednou. Kaudálně směřující vaječník byl dlouhý 1 236 μm .



Obrázek 16: vlevo parazitická samice; vpravo viditelná děloha s vajíčky, šipka směřující na vulvu (vlastní foto autorky)

5.2.6 Změny na sliznicích trávicího traktu

Celkem byla provedena pitva u 9 nutrií z chovu české farmy a u 3 nutrií pocházejících z volné přírody z okolí Benešova. Celý záznam z pitev, ve kterém se nachází označení zvířete, změny na sliznicích trávicího traktu a nalezení parazitů, je uvedený v Tabulce č 9.

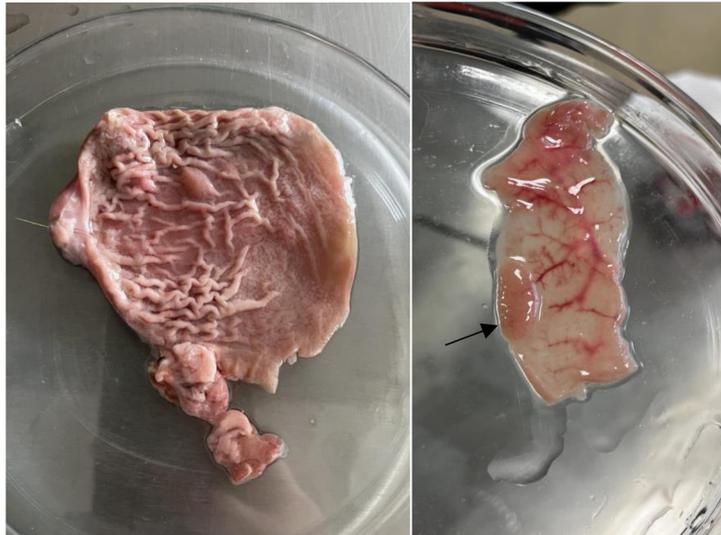
Tabulka 9: Záznam z pitev, nález hlístic a změny na sliznici žaludku a střeva

Označení nutrie	Nález	Sliznice žaludek	Sliznice Tenké střevo
N1	Hlístice	/	/
	Sliznice	/	Místy krvavá
N2	Hlístice	Free hlístice	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>
	Sliznice	Změna	/
N3	Hlístice	Poškozená free larva	/
	Sliznice	Místy krvavá	/
N4	Hlístice	Free larvy + dospělec	Free larvy
	Sliznice	Změna	Hodně prokrvená + léze
N5	Hlístice	Free larvy + dospělec	Free larvy
	Sliznice	/	/
N6	Hlístice	/	/
	Sliznice	/	/
N7	Hlístice	Poškozené free larvy	Poškozený free dospělec
	Sliznice	změna	Místy lehce krvavá
N8	Hlístice	/	/
	Sliznice	/	/
N9	Hlístice	/	/
	Sliznice	/	/
DN1	Hlístice	/	/
	Sliznice	Krvavá	Krvavá + léze
DN2	Hlístice	/	<i>Strongyloides myopotami</i>
	Sliznice	Změna	Velká léze + více menších
DN3	Hlístice	/	<i>Strongyloides myopotami</i>
	sliznice	/	Načernalá až nekrotická

Nutrie označené N1 – N9 pocházející z české farmy. DN1 – DN3 je označení pro volně žijící nutrie, které byly odstřeleny v okolí Benešova. Označení „free“ je pro hlístice z volně žijící generace *S. myopotami*.

5.2.6.1 Změny na sliznici po infekci *Strongyloides myopotami*

N3 měla opět změnu na sliznici žaludku, kde se nacházely free hlístice. Sliznice střeva byla beze změny a bez nálezu hlístic. U N4 a N5 se v žaludku našly larvy a dospělec z volně žijící generace. Ve střevech byly free larvy, změny na sliznicích však byly jen u N4, která měla změny na sliznici žaludku a hodně prokrvenou sliznici tenkého střeva, na které se nacházela léze (viz Obrázek 17). U N7 se našli opět změny na žaludku (viz Obrázek 18). Sliznice střeva byla místy lehce krvavá.



Obrázek 17: N4; vlevo je změna sliznice žaludku; vpravo prokrvená sliznice tenkého střeva a šipka ukazující na lézi (vlastní foto autorky)



Obrázek 18: N7; změna na žaludeční sliznici (vlastní foto autorky)

Na rozdíl od nutrií z chovné farmy se u volně žijících DN2 a DN3 našly v tenkém střevě námi hledané dospělé parazitické samice *Strongyloides myopotami*. U DN1 byly pouze změny na sliznici žaludku, která byla místy krvavá (viz obrázek 19). Na sliznici střeva byla nalezena

jedna větší léze (viz obrázek 20). U DN2 byla žaludeční sliznice pozměněná (viz Obrázek 21), hlístice se v žaludku však nenašly. Na střevní sliznici byla nalezena opět větší léze (viz Obrázek 22) a i několik dalších menších lézí. DN3 změnu na žaludeční sliznici neměla, zato sliznice střeva byla zčernalá až nekrotická (viz obrázek 23).



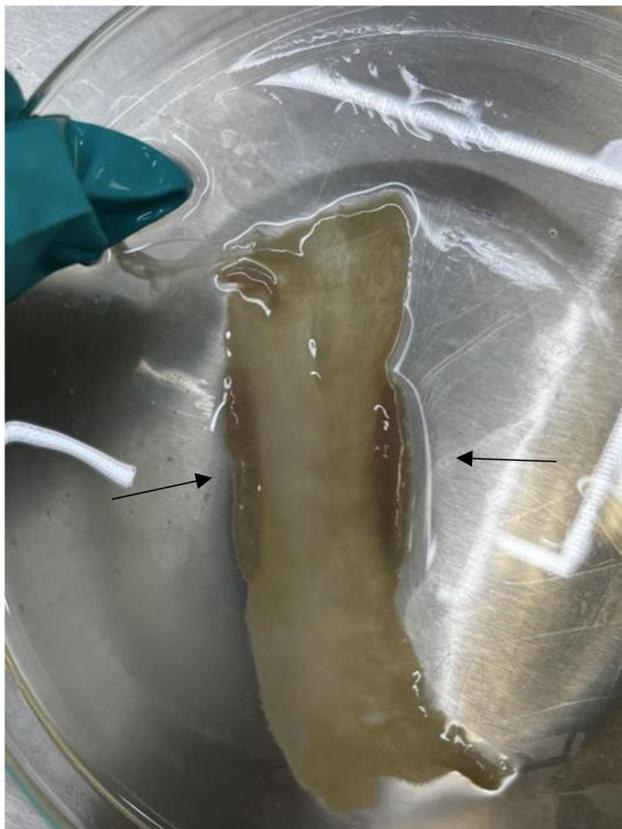
Obrázek 19: DN1; krvavá místa na sliznici žaludku (vlastní foto autorky)



Obrázek 20: DN1; velká léze na sliznici duodena (vlastní foto autorky)



Obrázek 21: DN2; změna na sliznici žaludku (vlastní foto autorky)



Obrázek 22: DN2; velká léze podélně rozříznutá na sliznici duodena (vlastní foto autorky)



Obrázek 23: DN3; zčernalá až nekrotická sliznice v pylorické části tenkého střeva (vlastní foto autorky)

5.2.6.2 Změny na sliznici bez přítomnosti hlístic

U N1 se našly změny na střevní sliznici, která byla místy krvavá (viz Obrázek 24), ačkoliv se neprokázala přítomnost hlístic. Při pitvě N6, N8 a N9 se nenašly žádné změny na trávicí soustavě, sliznice měli fyziologickou barvu a strukturu.



Obrázek 24: N1; krvavá místa na sliznici tenkého střeva (vlastní foto autorky)

5.2.6.3 Výskyt ostatních parazitů

U N2 se v tenkém střevě našel samec *Trichostrongylus colubriformis*, sliznice však byla čistá. V žaludku byly nalezeny free hlístice a změna na sliznici (viz Obrázek 25).



Obrázek 25: N2; Změna na žaludeční sliznici (Vlastní foto autorky)

5.2.7 Poměr iL3 a L3 z vajíček ze stejného vzorku faeces

Z šesti založených koprokultur pouze jedna neobsahovala žádné hlístice. Poměry v procentech jsou dost různorodé (viz Tabulka č. 10). U vzorků č. 3 a 6 byly nalezeny pouze larvy 3. generace rhabditoidního typu. U vzorku č. 1 a č. 2 byl vyšší počet filariformních larev 3. generace, zatímco u vzorku č. 5 byl vyšší počet rhabditoidních larev. Filariformní larva spolu s rhabditoidní larvou je viděna na Obrázku 26.

Tabulka 10: Poměr iL3 a L3 z jednoho vzorku koprokultury.

Číslo koprokultury	Počet larev ve vzorku	iL3 filariformní	L3 rhabditoidní	Vyobrazení (v %) iL3: L3
1	5	4	1	80:20
2	34	31	3	91,2:8,8
3	5	0	5	0:100
4	0	/	/	/
5	78	28	50	35,9 :64,1
6	20	0	20	0:100

Veškeré číselné hodnoty jsou uvedeny v kusech, pokud není uvedeno jinak.



Obrázek 26: vlevo rhabditoidní L3, vpravo filariformní iL3 (vlastní foto autorky)

5.2.8 Zdravotní stav chovaných nutrií

Nutrie chované pro výzkum, které byly přirozeně infikované, nevykazovaly žádné známky onemocnění. Faeces měli přirozenou strukturu i barvu. Nebyly pozorovány žádné změny na srsti ani abnormální chování. Nevyskytovala se letargie, hubnutí, nežravost ani svědivost.

6 DISKUZE

Kolonie nutrií se díky globálnímu oteplování a přikrmování volně žitých zvířat neustále rozšiřují (Klimešová 2023). Jelikož nutrie bývají rezervoárem několika druhů parazitů, je zapotřebí se tomuto tématu věnovat. Rod *Strongyloides* obsahuje přibližně 50 druhů, které se vyskytují celosvětově (White et al. 2019).

V první hypotéze jsme si definovali, že *S. myopotami* patří mezi časté hlístice nutrií v chovech i nutrií ve volné přírodě. Tato hypotéza byla potvrzena. *S. myopotami* jsme objevili v chovu české farmy, ale i v trávicím traktu divokých nutrií.

Právě druh *S. myopotami* je nejběžnější parazitickou hlísticí nacházející se u nutrií s čím se shodují například autoři (Martino et al. 2012; De Michelis et al. 2023, Mori et al. 2024). De Michelis et al. 2023 uvádí, že v Itálii je prevalence toho druhu hlístic až 71 %. Podle (Hasegawa et al. 2009) se všechny druhy *Strongyloides* velmi podobají a podle morfologie se nedají zcela přesně odlišit. Pro přesné určení druhu je zapotřebí udělat analýzu sekvence DNA. S tímto tvrzením nesouhlasí hned několik autorů. Například podle Viney & Lok (2007) jdou jednotlivé druhy odlišit podle typu vaječníků podle toho, jestli vedou kolem střev spirálovitě nebo rovně. Choe et al. (2014) uvádí 5 identifikačních klíčů pro určení druhu, který se určuje podle tvaru ocasu, typu vaječníků, tvaru stomie a počet laloků na stomii a v neposlední řadě podle tvaru a velikosti vajíček. Sato et al. (2008) vydal studii, kde popisuje tvar stomie a počet laloků celkem u 5 druhů *Strongyloides*. K odlišnostem se pojí i odlišná hostitelská specifita, která se více potvrzuje morfologií než genetikou (Thamsborg et al. 2017). Jelikož v tomto výzkumu se pozorovala jen základní morfologie a nebyly nalezeny žádné studie s kompletním klíčem k určení druhu. Pro určení druhu byly hlístice poslány na genetiku, která určila nalezené hlístice jako *S. myopotami*.

Parazitické partenogenní samice se nacházejí v tenkém střevě, kde kladou vajíčka, která se spolu s faeces dostávají do vnějšího prostředí, kde se dále vyvíjejí (Viney & Lok 2007) s čím souhlasí další řada autorů například (Bradbury et al. 2021, Tobar et al. 2021, Streit 2007 a Beak et al. 1998). Viney & Lok (2015) dále uvádí, že samice se nacházejí v horní polovině až třetině tenkého střeva. S tímto souhlasíme, jelikož dospělé parazitické samice byly nalezeny pouze v tenkém střevě, převážně v oblasti duodena.

Tato práce se zabývala především popisem jednotlivých stádií, parazitických samic a vývojem a popisem vajíček *Strongyloides myopotami*. Jelikož vajíčka, larvální stádia a dospělé parazitické samice pocházely od jedinců s přirozenou infekcí, bylo velmi složité získat větší vzorek. Vzhledem k výsledkům této studie, byl zjištěn nepatrný rozdíl v průměrných rozměrech morfologie, do které spadá délka a šířka těla, délka jícnu a střev i vzdálenost anu od špičky ocasu. Vysvětlením morfometrických rozdílů může být výrazně dlouhé časové období mezi ostatními studii, odlišný kontinent nebo lokalita, ale i konkrétní hostitel. Podle Islam et al. (1999) může za odlišnosti ve velikosti i druh kultivační metody.

Druhá hypotéza, která pojednává o době líhnutí vajíček a uvádí, že se L1 líhnou z vajíček v rozmezí 6-10 hodin, je částečně zamítnuta, jelikož nejdelší doba, za jakou se L1 vylíhly, byla 8 hodin. Nejkratší doba vývoje vajíček trvala pouze 2 hodiny a 50 minut. Což je velice odlišným výsledkem, oproti uvedeným údajům dalších autorů, ačkoliv se jednalo o jiné druhy *Strongyloides*. Podle Viney & Lok (2007) se z vajíček L1 líhnou do několika hodin. Jelikož se řada autorů zabývala především vývojem a popisem ostatních druhů *Strongyloides*.

Doba vývoje byla vždy podobná a zásadně se neodlišovala. Baruš (1957), který pospal detailní vývoj *S. westeri*, uvádí, že larvy se z vajíček vylíhnou za 10 hodin. Podle Gugosyan et al. (2018) se u *S. westeri* do 7 hodin vylíhne 90 % vajíček při teplotě 25 °C. Podle Basir (1950) se vajíčka při teplotě 27 °C líhnou za 6 hodin u *S. papillosus*. V této práci je uvedený průměr času vylíhnutí 4 hodiny a 59 minut při teplotě 23 °C. Příčinou takto odlišné doby líhnutí, je spojeno s odlišností druhu. Jelikož nejkratší a nejdelší líhnutí tohoto výzkumu je od sebe 5 hodin a 10 minut, doba líhnutí nezávisela jen na druhu a teplotě při inkubaci, ale možným vysvětlením může být, že se do vnějšího prostředí dostávají vajíčka v různém stupni vývoje, což může zapříčinit už vnitřní teplota hostitele nebo pomalejší střevní pasáž. Jestliže tělesná teplota hostitele bude vyšší a střevní pasáž bude pomalejší, do prostředí se dostanou vajíčka již ve vysokém stupni vývoje. Dalším možným vysvětlením podle Urquhart et al. (1996) je rozdílná teplota a vlhkost při inkubaci, již ve vnějším prostředí. V tomto výzkumu se vajíčka vždy nechala ve stejných podmínkách, a přesto se líhla za odlišný počet hodin. Byla však sebrána vždy v odlišnou denní dobu a odlišný den. V potaz by se měla brát i výživa hostitelů. Pro přesnější určení příčin je potřeba dalšího výzkumu.

Ve třetí hypotéze jsme definovali, že L3 rhabditoidní a iL3 filariformní se velikostně odlišují. Tato hypotéza byla potvrzena, jelikož průměr délky těla filariformních larev byl o 105,42 µm větší než u rhabditoidních L3. Naopak průměrná šířka dosahovala větších rozměrů u rhabditoidních larev o 4,06 µm. Délka a morfologie jícnu se nejvíce odlišuje. Filariformní larvy mají rovný dlouhý jícen, který se lehce zesílený při napojování se na střevo. Průměrně dosahoval délky 307,12 µm. Zatímco u rhabditoidních larev je jícen zesílený v přední i vzdání části a dosahuje průměrné délky pouze 122,37 µm.

Zajímavým výsledkem je poměr L3 rhabditoidních a iL3 filariformních jedinců izolovaných z koprokultury, který byl vždy různý. Parazitické samice kladou geneticky stejná vajíčka, která jsou určena vždy pro konkrétní vývoj (Viney & Lok 2015). Podle Zhou et al. (2019) se larvy od jedné samice vydají vždy stejnou životní cestou, tj. parazitickou nebo volně žijící. Jedno z možných vysvětlení je, že se ve střevech hostitele nachází více parazitických samic, které kladou různý počet vajíček a potomci od každé samice jsou určeni pro jiný vývojový cyklus. Avšak podle Nwaorgu (1983) má na tento poměr vliv inkubační teplota. Parazitické samice převažují při 20 °C, zatímco volně žijící samice při 30 °C.

Téměř v celém trávicím traktu byly nalezeny volně žijící hlístice. Jejich struktura však byla poškozena. Tento jev přisuzujeme tomu, že se do trávicího traktu larvy dostaly společně s krmivem či vodou, jelikož se běžně vyskytovaly v půdě a na podlaze výběhu. Nejsou přizpůsobeni parazitování, proto byly poškozeny samotným trávením hostitele. Změny na sliznici, které byly zjištěny při pitvách bez nalezení hlístice, přisuzujeme kokcidiím: jejichž výskyt nebyl neobvyklým. Byly často nalezené při koprologickém vyšetření, nebyly však dále zkoumány.

Častými klinickými příznaky vyskytující se u nutrií při infekci *S. myopotami* bývá průjem, otupělost, ztráta hmotnosti, dušnost, špatná kvalita srsti. S tímto tvrzením se shodují autoři (Mertin et al. 2005) a (Urquhart et al. 1996). K propuknutí onemocnění je potřeba vyšší koncentrace hlístic v těle hostitele (Tobar et al. 2021, Martino et al. 2012). Nízká zátěž parazity nezpůsobí propuknutí onemocnění (Mertin et al. 2005). Což je vysvětlením proč se u nutrií chovaných pro tento výzkum se neprojeví žádné známky onemocnění. Infekce *S. myopotami* byla velmi slabá, počet vajíček se pohyboval pouze v desítkách kusů.

Nejběžnější diagnostikou bývá vyšetření čerstvých faeces, které jsou odebírány přímo z rekta nebo ze země a jsou podrobeny koprologickému vyšetření (Viney & Lok 2007). Jelikož při našem výzkumu nebylo možné odebírat faeces přímo z rekta, odebírali se čerstvé faeces z podlahy výběhu. Výběh byl kontrolován každých 10 minut. Čerstvé faeces byly okamžitě sebrány a vloženy do kádinky s vodou, čím se zabránilo kontaminaci volně žijícími generacemi.

7 ZÁVĚR

Tato práce přinesla více ucelený přehled o základní morfologii vajíček, larev, dospělých parazitických samic a nový poznatek o době, za kterou se z vajíček vylíhnou L1. Cílem této práce bylo identifikovat a popsat jednotlivá exogenní stádia parazitických hlístic *Strongyloides myopotami*, jelikož na toto téma není moc kompletních studií. Dalším výzkumem by mohl být kompletněji zaznamenaný vývoj a popis dospělé volně žijící generace u *S. myopotami*. Do budoucna by bylo dobré sledovat morfologii jednotlivých druhů. Zjistit, zda se mění a vyvíjí nebo zůstává stejná. Jelikož s měnící se morfologií se může měnit a vyvíjet specifčnost jednotlivých druhů. Závěrem lze konstatovat:

- Hypotéza č. 1 byla částečně potvrzena. *S. myopotami* je běžně se vyskytující hlísticí nacházející se u nutrií, což potvrzuje hned několik autorů. Podle tohoto výzkumu se *S. myopotami* nacházely jak ve volné přírodě, tak v chovu české farmy.
- Hypotéza č. 2 je částečně zamítnuta. Jelikož uvádí, že u *S. myopotami* se larvy vylíhnou z vajíček za 6 až 10 hodin. Výsledky této studie tvrzení částečně vyvrací. Larvy se z vajíčka vylíhly maximálně do 8 hodin, průměrný čas vylíhnutí byl však 4 hodiny a 59 minut. Což dalo vzniku nejzajímavějšímu výsledku tohoto výzkumu.
- Hypotéza č. 3 byla potvrzena, jelikož filariformní iL3 mají průměr délky těla větší než rhabditoidní L3. Šířka těla však byla průměrně větší u rhabditoidních L3.

8 LITERATURA

- A. F. White M, Whiley H, E. Ross K. 2019. A Review of *Strongyloides* spp. Environmental Sources Worldwide. *Pathogens* **8**:91. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. DOI 10.3390/pathogens8030091.
- Abbas G et al. 2021. Molecular detection of *Strongyloides* sp. in Australian Thoroughbred foals. *Parasites & Vectors* **14**:444. DOI 10.1186/s13071-021-04966-1.
- Baruš. 1957. Vývojové cykly některých cizopasných hlístic našich koní **1**:41–54.
- Basir MA. 1950. The morphology and development of the sheep nematode, *strongyloides papillosus* (wedl, 1856). *Canadian Journal of Research* **28d**:173–196. NRC Research Press. DOI 10.1139/cjr50d-013.
- Beak B, Islam MK, Kim J-H. 1998. Development of an in vitro culture method for harvesting the free-living infective larvae of *Strongyloides venezuelensis*. *Parasites, Hosts and Diseases* **36**:15–22. The Korea Society for Parasitology and Tropical Medicine.
- Blaxter M, Koutsovoulos G. 2015. The evolution of parasitism in Nematoda. *Parasitology* **142**:S26–S39. DOI 10.1017/S0031182014000791.
- Boyko AA, Brygadyrenko VV. 2017. Changes in the viability of *Strongyloides ransomi* larvae (Nematoda, Rhabditida) under the influence of synthetic flavourings. *Regulatory Mechanisms in Biosystems* **1**:36–40. Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара, Украина, Днепропетровск.
- Bradbury RS, Pafčo B, Nosková E, Hasegawa H. 2021. *Strongyloides* genotyping: a review of methods and application in public health and population genetics. *International Journal for Parasitology* **51**:1153–1166. DOI 10.1016/j.ijpara.2021.10.001.
- De Michelis S, De Liberato C, Amoruso C, Battisti C, Carosi M. 2023. First Worldwide Evidence of Bronchopulmonary Strongyle Nematodes and the First Report on Italy of *Cryptosporidium* sp. in Allochthonous Nutria (*Myocastor coypus*). *Diversity* **15**. MDPI AG. DOI 10.3390/d15050611.
- Eberhardt AG, Mayer WE, Bonfoh B, Streit A. 2008. The *Strongyloides* (Nematoda) of sheep and the predominant *Strongyloides* of cattle form at least two different, genetically isolated populations. *Veterinary Parasitology* **157**:89–99. DOI 10.1016/j.vetpar.2008.07.019.
- Faust E. 1933. Experimental Studies on Human and Primate Species of *Strongyloides*. II. The Development of *Strongyloides* in the Experimental Host **18**:114–132.
- Gugosyan YA, Yevstafyeva VA, Gorb OA, Melnychuk VV, Yasnolob IO, Shendryk CM, Pishchalenko MA. 2018. Morphological features of development of *Strongyloides westeri* (Nematoda, Rhabditida) in vitro. *Regulatory Mechanisms in Biosystems* **9**:75–79. Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара, Украина, Днепропетровск.
- Hale OM, Marti OG. 1984. Influence of an Experimental Infection of *Strongyloides Ransomi* on Performance of Pigs. *Journal of Animal Science* **58**:1231–1235. DOI 10.2527/jas1984.5851231x.
- Hasegawa H, Hayashida S, Ikeda Y, Sato H. 2009. Hyper-variable regions in 18S rDNA of *Strongyloides* spp. as markers for species-specific diagnosis. *Parasitology Research* **104**:869–874. DOI 10.1007/s00436-008-1269-9.

- Chitwood BG, Graham GL. 1940. Absence of Vitelline Membranes on Developing Eggs in Parasitic Females of *Strongyloides ratti*. *The Journal of Parasitology* **26**:183–190. [The American Society of Parasitologists, Allen Press]. DOI 10.2307/3272206.
- Choe S, Lee D, Park H, Oh M, Jeon H-K, Eom KS. 2014. *Strongyloides myopotami* (Secernentea: Strongyloididae) from the Intestine of Feral Nutrias (*Myocastor coypus*) in Korea. *The Korean Journal of Parasitology* **52**:531–535. DOI 10.3347/kjp.2014.52.5.531.
- Islam MK, Matsuda K, Kim J-H, Baek B-K. 1999. Effects of in vitro culture methods on morphological development and infectivity of *Strongyloides venezuelensis* filariform larvae. *The Korean Journal of Parasitology* **37**:13–19. DOI 10.3347/kjp.1999.37.1.13.
- Jurášek V, Dubinský P. 1993. *Veterinárná parazitológia. Príroda a. s., Bratislava.*
- Kirtland A, McAloon C, Walshe N, Duggan V. 2023. *Strongyloides westeri* infection on a Thoroughbred breeding farm in Ireland (2014–2019): Prevalence, risk factors and peripartum ivermectin. *Equine Veterinary Education* **35**:e438–e450. DOI 10.1111/eve.13736.
- Klimešová A. 2023. *Střevní helminti nutrie říční (Myocastor coypus) v České republice. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Brno.*
- Kotze AC, Clifford S, O'grady J, Behnke JM, McCarthy JS. 2004. An in vitro larval motility assay to determine anthelmintic sensitivity for human hookworm and *Strongyloides* species **71**:608–616.
- Kreis HA. 1932. Studies on the Genus *Strongyloides* (Nematodes). *American Journal of Hygiene* **16**:450–491.
- Little MD. 1965. Dermatitis in a human volunteer infected *Strongyloides* of nutria and raccoon. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **14**:1007–9.
- Little MD. 1966. Comparative Morphology of Six Species of *Strongyloides* (Nematoda) and Redefinition of the Genus. *The Journal of Parasitology* **52**:69–84. [The American Society of Parasitologists, Allen Press]. DOI 10.2307/3276396.
- Ludwig KG, Craig TM, Bowen JM, Ansari MM, Ley WB. 1983. Efficacy of ivermectin in controlling *Strongyloides westeri* infections in foals. *American Journal of Veterinary Research* **44**:314–316.
- Lyons ET, Tolliver SC. 2014. Prevalence of patent *Strongyloides westeri* infections in Thoroughbred foals in 2014. *Parasitology Research* **113**:4163–4164. DOI 10.1007/s00436-014-4088-1.
- Marcelino L, González E, Morales R, Mendoza A, Garfías C, Ramírez G, Torres N, León S. 2023. Zoonoses Associated with Geohelminthiasis **2**:361–376.
- Martino P, Radman N, Parrado E, Bautista E, Cisterna C, Silvestrini M, Corba S. 2012. Note on the occurrence of parasites of the wild nutria (*Myocastor coypus*, Molina, 1782). *Helminthologia* **49**:164–168. DOI 10.2478/s11687-012-0033-y.
- Mertin D, Baňák M, Barta M, Hanusová E, Hanusová J, Kaplan J, Parkányi V, Sůvegová K. 2005. *BIOLOGICKÉ ASPEKTY CHOVU NUTRIE RIEČNEJ (Myocastor coypus). Výzkumný ústav živočišnej výroby, Nitra.*
- Mihaylov R, Dimitrov R, Binev R, Stamatova-Yovcheva K. 2017. A STUDY OF SOME BIOLOGICAL, ANATOMICAL AND RELATED ENVIRONMENTAL FEATURES OF NUTRIA /MYOCASTOR COYPUS/ FROM THE TERRITORY OF STARA

- ZAGORA REGION. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi **2**:7–15. DOI 10.24880/maevufd.290937.
- Miller FL, Bellaw JL, Lyons ET, Nielsen MK. 2017. *Strongyloides westeri* worm and egg counts in naturally infected young horses. *Veterinary Parasitology* **248**:1–3. DOI 10.1016/j.vetpar.2017.10.010.
- Mixánová P. 2022. Paraziti v chovu Nutrií. Bakalářská práce. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Mori Y, Naka A, Koda R, Ishizuka Y, Hinenoya A, Shibahara T, Sasai K, Matsubayashi M. 2024. Improved molecular identification of *Strongyloides myopotami* in nutrias using fecal samples. *Journal of Veterinary Medical Science* **86**:349–353. DOI 10.1292/jvms.23-0198.
- Nwaorgu OC. 1983. The development of the free-living stages of *Strongyloides papillosus*. *Veterinary Parasitology* **13**:213–223. DOI 10.1016/0304-4017(83)90058-4.
- Pérez W, Lima M, Bielli A. 2008. Gross anatomy of the intestine and its mesentery in the nutria (*Myocastor coypus*). *Folia Morphologica* **67**:286–291.
- Pienaar J, Basson P, Du Plessis J, Collins H, Naude T, Boyazoglu P, Boomker J, Reyers F, Pienaar W. 1999. Experimental studies with *Strongyloides papillosus* in goats **66**:191–235.
- Puthiyakunnon S, Boddu S, Li Y, Zhou X, Wang C, Li J, Chen X. 2014. Strongyloidiasis—An Insight into Its Global Prevalence and Management. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **8**:e3018. Public Library of Science. DOI 10.1371/journal.pntd.0003018.
- Romero A, García JA, Castells D, Gayo V, Dutra Quintela F. 2022. Strongyloidiasis (*Strongyloides papillosus*) in lambs in Uruguay. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* **31**:100737. DOI 10.1016/j.vprsr.2022.100737.
- Rossin M, Varela G, Timi J. 2009. *Strongyloides myopotami* in ctenomyid rodents: Transition from semi-aquatic to subterranean life cycle. *Acta Parasitologica* **54**:257–262. De Gruyter. DOI 10.2478/s11686-009-0033-3.
- SANDGROUND JH. 1926. BIOLOGICAL STUDIES ON THE LIFE-CYCLE IN THE GENUS *STRONGYLOIDES* GRASSI, 1879*. *American Journal of Epidemiology* **6**:337–388. DOI 10.1093/oxfordjournals.aje.a120018.
- Sato H, Tanaka S, Une Y, Torii H, Yokoyama M, Suzuki K, Amimoto A, Hasegawa H. 2008. The stomal morphology of parasitic females of *Strongyloides* spp. by scanning electron microscopy. *Parasitology Research* **102**:541–546. DOI 10.1007/s00436-007-0800-8.
- Skřivan M, Erlblech A, Faltus J, Hanák J, Kukla F, Mouka J, Stejskal J, Uhlířová Z. 1976. Chov kožešinových zvířat. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Streit A. 2008. Reproduction in *Strongyloides* (Nematoda): A life between sex and parthenogenesis. *Parasitology* **135**:285–94. DOI 10.1017/S003118200700399X.
- Taira N, Ura S. 1991. Sudden death in calves associated with *Strongyloides papillosus* infection. *Veterinary Parasitology* **39**:313–319. DOI 10.1016/0304-4017(91)90048-Z.
- Taylor MA, Coop RL, Wall R. 2015. *Veterinary parasitology* 4th edition. John Wiley and Sons, Inc, Chichester, West Sussex ; Ames, Iowa.
- Thamsborg SM, Ketzis J, Horii Y, Matthews JB. 2017. *Strongyloides* spp. infections of veterinary importance. *Parasitology* **144**:274–284. DOI 10.1017/S0031182016001116.

- Tobar J, Ramos-Sarmiento D, Tayupanta D, Rodríguez M, Aguilar F. 2021. Microscopic and molecular evaluation of *Strongyloides venezuelensis* in an experimental life cycle using Wistar rats. *Biomédica* **41**:35–46.
- Točka I. 1983. *Chováme nutrie. Príroda, vydavateľstvo kníh a časopisov*, n. p., Bratislava.
- Urquhart G, Armour J, Duncan J, Dunn A, Jennings F. 1996. *Veterinary parasitology* 2nd ed. Blackwell science, London Edinburgh Cambridge [etc.].
- Viney ME, Lok JB. 2007. *Strongyloides* spp. WormBook: The Online Review of *C. Elegans* Biology:1–15. DOI 10.1895/wormbook.1.141.1.
- Viney ME, Lok JB. 2015. The biology of *Strongyloides* spp. WormBook: The Online Review of *C. Elegans* Biology:1–17. DOI 10.1895/wormbook.1.141.2.
- Volf P, Horák P, Čepička I, Flegr J, Lukeš J, Mikeš L, Svobodová M, Vávra J, Votýpka J. 2007. *Paraziti a jejich biologie*. TRITON, Praha.
- Wagner JA. 1963. Gross and microscopic anatomy of the digestive system of the nutria, *Myocastor coypu bonariensis* (Geoffroy). *Journal of Morphology* **112**:319–333. DOI 10.1002/jmor.1051120308.
- Zanzani SA, Cerbo AD, Gazzonis AL, Epis S, Invernizzi A, Tagliabue S, Manfredi MT. 2016. Parasitic and Bacterial Infections of *Myocastor coypus* in a Metropolitan Area of Northwestern Italy. *Journal of Wildlife Diseases* **52**:126–130. DOI 10.7589/2015-01-010.
- Zhou S, Harbecke D, Streit A. 2019. From the feces to the genome: a guideline for the isolation and preservation of *Strongyloides stercoralis* in the field for genetic and genomic analysis of individual worms. *Parasites & Vectors* **12**:496. DOI 10.1186/s13071-019-3748-5.

*Literatura byla generována pomocí volně dostupného citačního manažeru Zotero-
<https://www.zotero.org>*

9 SAMOSTATNÉ PŘÍLOHY



Příloha I: Divoká nutrie focena v Plzni u řeky Mže (vlastní foto autorky)



*Příloha II: Samice nutrie chovaná pro výzkum parazitů *S. myopotami* (vlastní foto autorky)*



*Příloha III: Samice chovaná pro výzkum parazitů *S. myopotami* (vlastní foto autorky)*



Příloha IV: Příprava na koprologii v laboratoři ČZU (vlastní foto autorky)



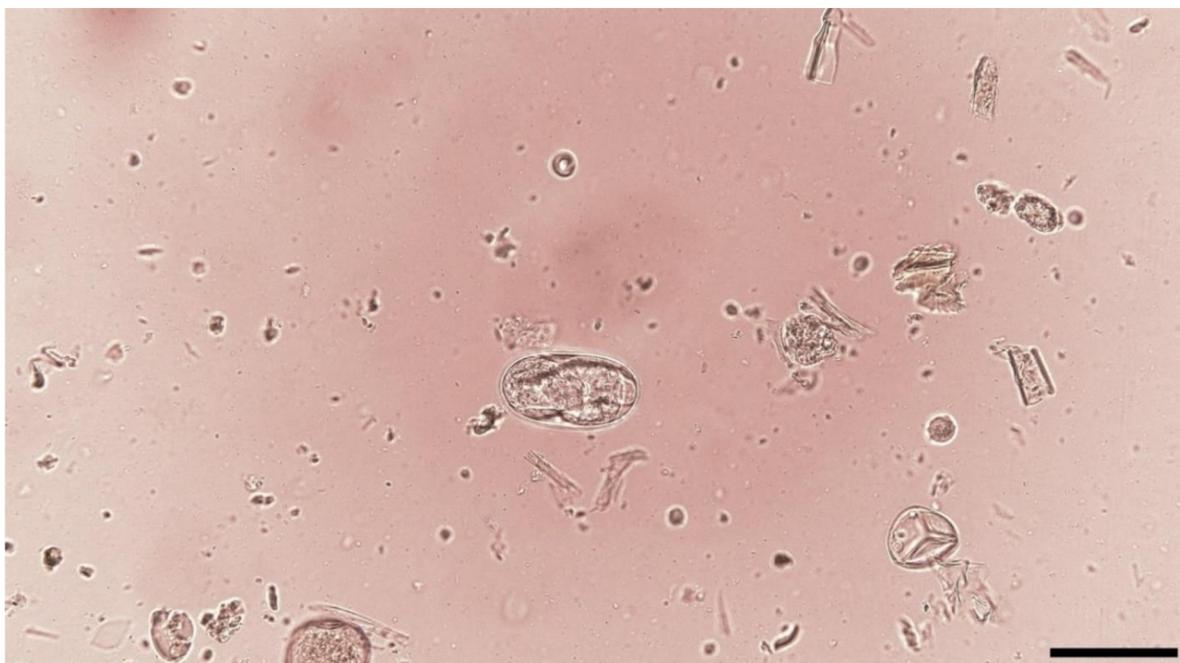
Příloha V: Založená koprokultura (vlastní foto autorky)



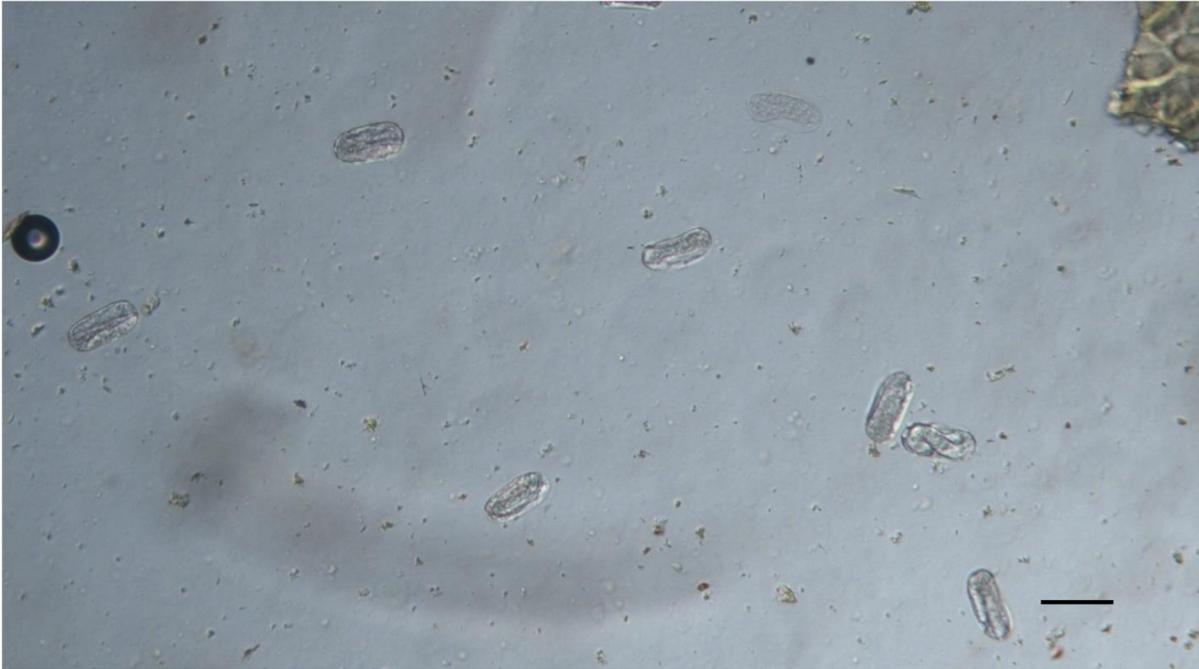
Příloha VI: Baermanova metoda (vlastní foto autorky)



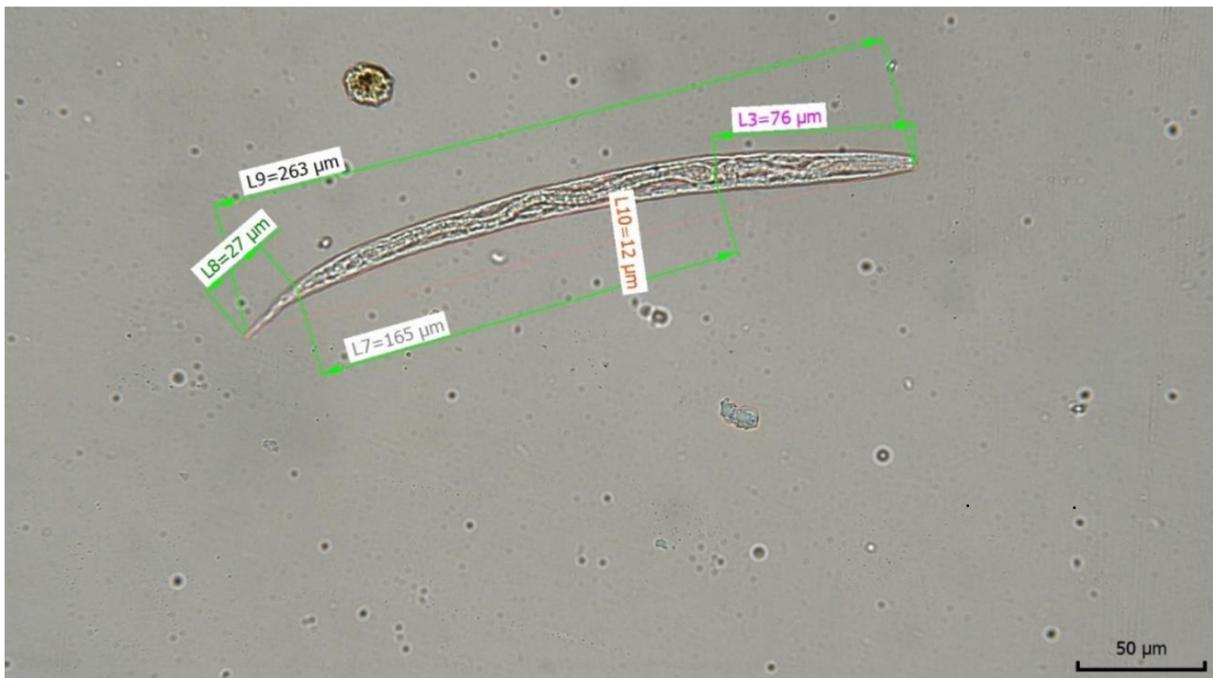
Příloha VII: Pitva uhynulé samice N1, která byla chována pro výzkum (vlastní foto autorky)



Příloha VIII: Vajíčko S. myopotami s viditelnou larvou. Měřítko 50 μ m. (vlastní foto autorky)



Příloha IX: Vajíčka *S. Strongyloides*. Měřítko 50 μm . (vlastní foto autorky)



Příloha X: L1 *S. myopotami* (vlastní foto autorky)



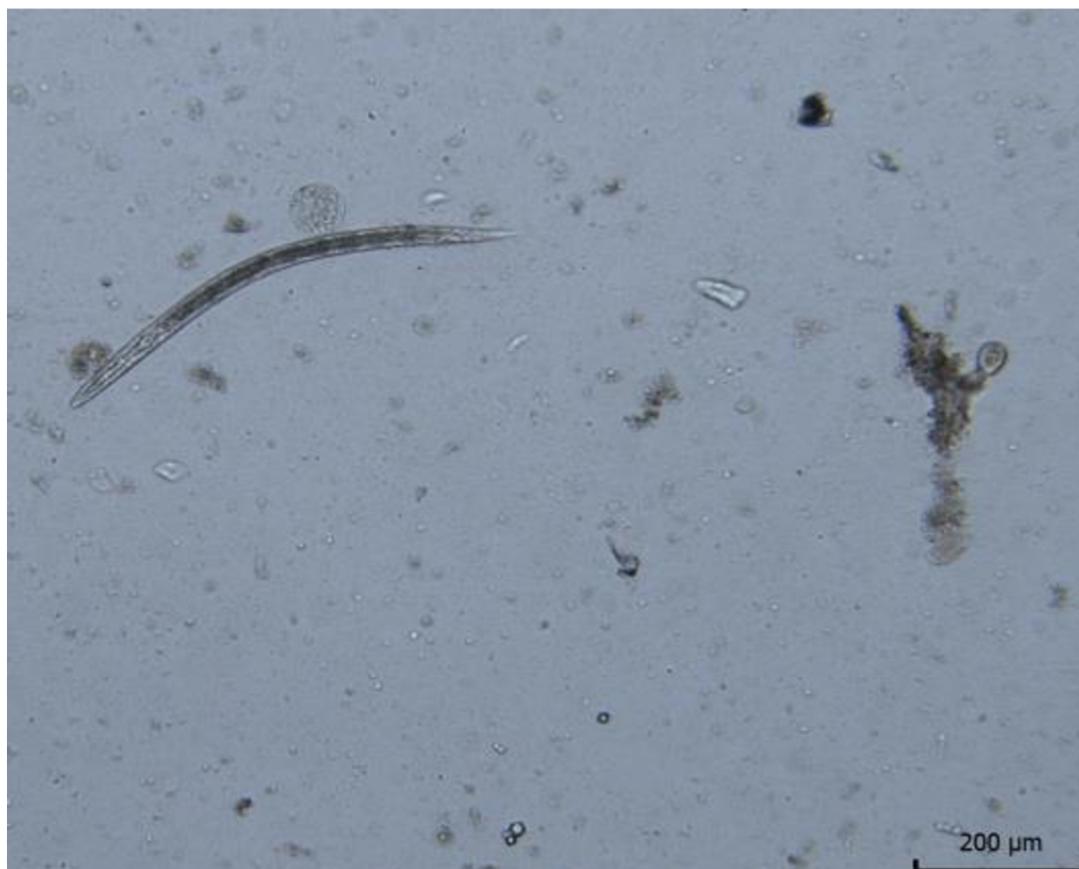
Příloha XI: L2 S. myopotami (vlastní foto autorky)



Příloha XII: S. myopotami; dole vlevo L2, nahoře L1 (vlastní foto autorky)



Príloha XIII: Přední část iL3 S. myopotami (vlastní foto autorky)



Príloha XIV: S. myopotami L3 rhabditoidní larva (vlastní foto autorky)



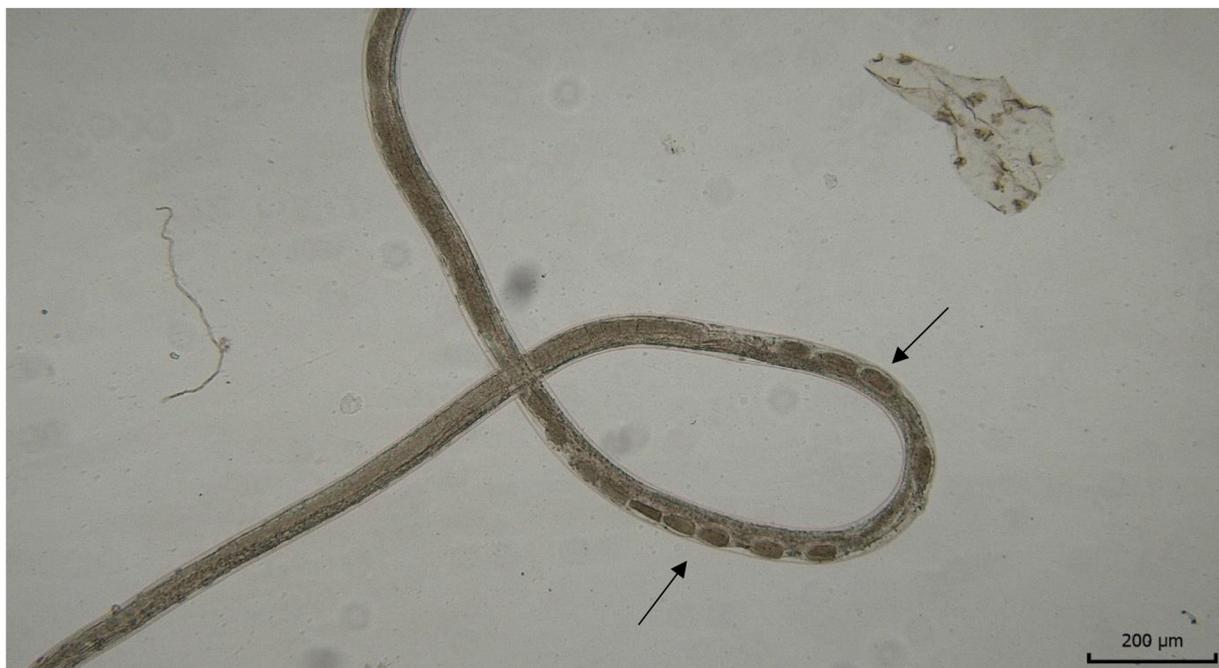
Příloha XV: iL3 S. myopotami, zvětšeno 20 × a přiblíženo (vlastní foto autorky)



Příloha XVI: Jícen navazující na střevo u iL3 S. myopotami, zvětšeno 40 × (vlastní foto autorky)



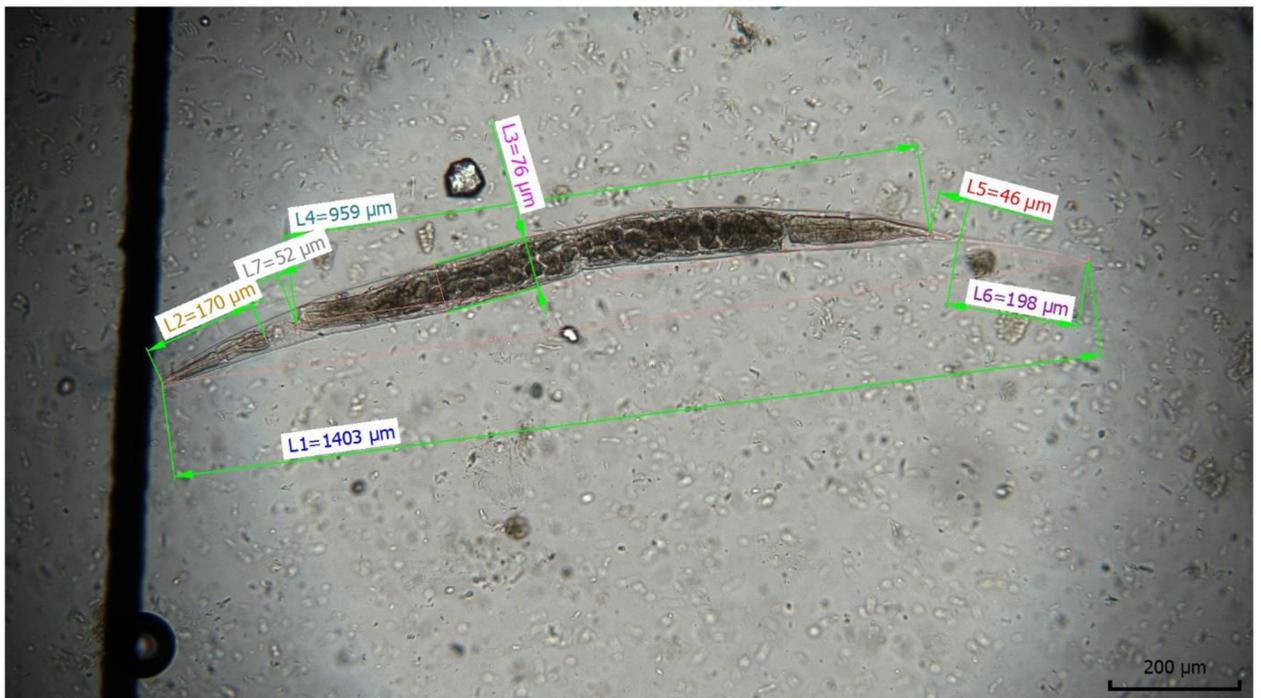
Příloha XVII: Přední část parazitické samice S. myopotami (vlastní foto autorky)



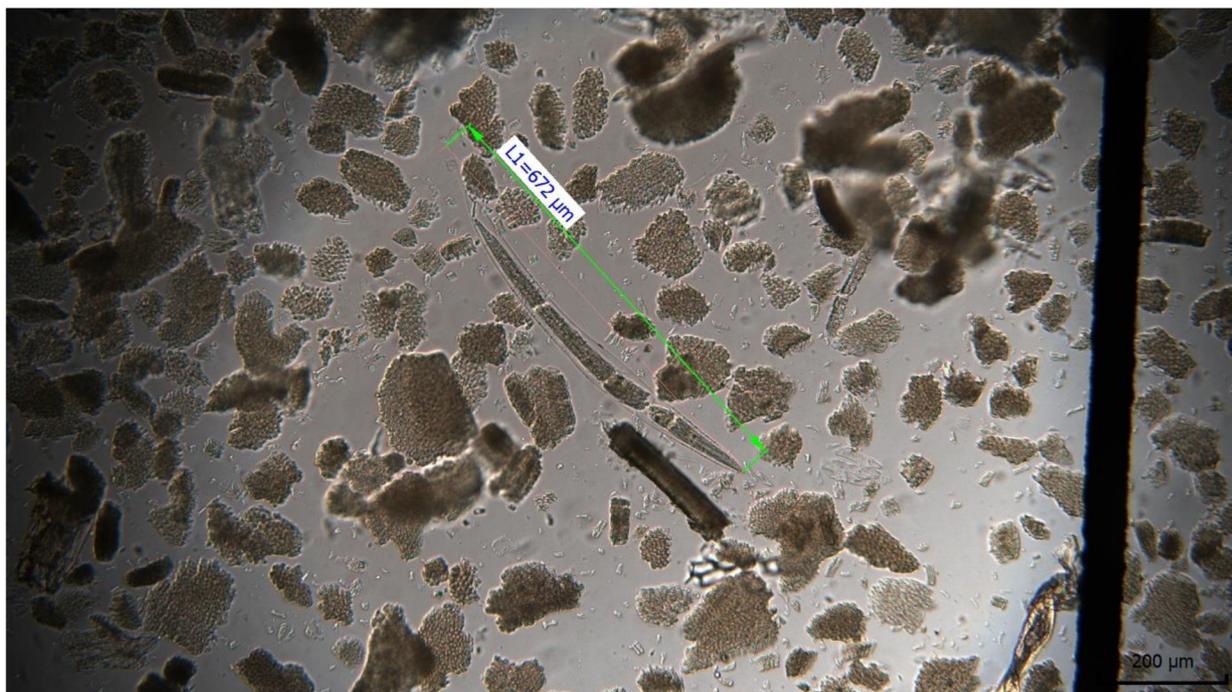
Příloha XVIII: Střední část parazitické samice S. myopotami s dělohou obsahující vajíčka (vlastní foto autorky)



Příloha XIX: Koncová část parazitické samice S. myopotami s viditelným vaječným směrujícím kaudálně od dělohy (vlastní foto autorky)



Příloha XX: Dospělá volně žijící samice neznámého druhu (vlastní foto autorky)



Příloha XXI: Free hlistice; poškozená; z duodena zmražené N3 (vlastní foto autorky)



Příloha XXII: Free hlistice; poškozená; z duodena zmražené N3 (vlastní foto autorky)



Příloha XXIII: Volně žijící samec S. myopotami (vlastní foto autorky)